Zum Vorkommen und zur Persistenz von Chemoresistenz bei Staphylokokken unterschiedlicher Herkunft

Richard Bartels

Diss München
1983

PUBLIC LIBRARY

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr

Arbeit angefertigt unter Leitung von Frau Prof. Dr. B. Gedek

ZUM VORKOMMEN UND ZUR PERSISTENZ VON CHEMORESISTENZ BEI STAPHYLOKOKKEN UNTERSCHIEDLICHER HERKUNFT

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der
Tierärztlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Richard Bartels
aus
Fürstenfeldbruck

München 1983

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan : Prof. Dr. W. Leidl
Referent: Prof. Dr. B. Gedek
Korreferent: Prof. Dr. K. Tempel

Tag der Promotion: 24. Februar 1984

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

MEINEN ELTERN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546002_0003

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1. EINLEITUNG		1
2. SCHRIFTTUM		3
2.1.	Genus Staphylococcus	3
2.1.1.	Koagulasepositive Staphylokokken	5
2.1.2.	Koagulasenegative Staphylokokken	10
2.2.	Auftreten von Chemoresistenz bei Staphylokokken	14
2.2.1	Resistenzentwicklung	14
2.2.2.	Induzierbare und konstitutive Resistenz	18
2.2.2.1.	Induzierbarer Phänotypus	18
2.2.2.2.	Konstitutiver Phänotypus	19
2.2.3	Mehrfachresistenz gegenüber Antibiotika	21
2.2.4.	Mehrfachresistenz gegenüber Chemotherapeutika und Metallionen	30
2.3.	Genetische Grundlagen der Chemoresistenz bei Staphylokokken	37
2.3.1.	Resistenzbegriff	37
2.3.2.	Chromosomale Resistenz	38
2.3.3.	Plasmid- vermittelte Resistenz	41
2.3.3.1.	Definition von Plasmiden	41
2.3.3.2.	Geschichte und Ursprung der Plasmide und ihrer Resistenzdeterminanten	41
2.3.3.3.	Aufbau und Nachweis von Plasmiden	44
2.3.3.4.	Vermehrung, Vererbung und Inkompatibilität bei Plasmiden	47

2.3.3.5. Kopiezahl und Größe von Staphylokokkenplasmiden 52
2.3.3.6. Vorkommen und Bedeutung von Plasmiden 55
2.3.3.7. Ausbreitung plasmidgebundener Resistenz bei Staphylokokken 58
2.3.3.8. Plasmidelimination bei Staphylokokken 60
2.3.4. Transponierbare genetische Elemente 64
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN 69
3.1. Material und Methoden 69
3.1.1. Herkunft der Stämme 69
3.1.2. Medien 69
3.1.3. Methoden 74
3.1.3.1. Selektive Züchtung, Isolierung und Konservierung der Staphylokokken 74
3.1.3.2. Empfindlichkeitsprüfung gegenüber Antibiotika 75
3.1.3.3. Testung des Verhaltens gegenüber Metallionen 78
3.1.3.4. Prüfung verschiedener Stoffe auf ihre Plasmid-eliminierende Wirkung 79
3.2. Ergebnisse und deren Besprechung 84
3.2.1. Verhalten selektiv mit Metallionen aus Untersuchungsmaterial von Kalb und Schwein gezüchteter Staphylokokken gegenüber Antibiotika 84
3.2.1.1. Allgemeine Resistenzquoten 84
3.2.1.2. Häufigkeit bestimmter Resistenzbilder unter Berücksichtigung der verschiedenen als Selektor verwendeten Metallionen 93

3.2.2. Vergleich der Resistenzquoten gegenüber Antibiotika der Staphylokokken von Kalb und Schwein mit denjenigen von anderen Tierarten und des Menschen 104

3.2.3. Empfindlichkeit Antibiotika-resistenter Staphylokokken unterschiedlicher Herkunft gegenüber Metallionen 108

3.2.4. Untersuchungen zur Persistenz von Eigenschaften der Chemoresistenz bei Staphylococcus aureus des Menschen und bei Staphylokokken von Tieren 117

4. DISKUSSION 138

5. ZUSAMMENFASSUNG 143

6. LITERATURVERZEICHNIS 149

Lebenslauf

1. EINLEITUNG

Keimarten, die zur saprophytischen und zur parasitären Lebensweise befähigt sind, erweisen sich heutzutage hauptsächlich als widerstandsfähig gegenüber äußeren Einflüssen, wozu die Resistenz gegenüber chemischen Stoffen mit antibakterieller Wirkung gehört (JACOBY und SWARTZ, 1980).

Infolge eines Vorkommens an verschiedenen Standorten sind auch Staphylokokken dem Angriff von Stoffen unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung ausgesetzt, gegenüber denen sie Resistenz entwickeln können. Dabei kann es sich sowohl um Naturstoffe wie Antibiotika, als auch um chemische Verbindungen handeln, die als Behandlungsmittel bei Mensch, Tier und Pflanze zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten eingesetzt werden. Ferner gehören dazu metallische Verbindungen von Elementen, die in den Katalog der Schadstoffe aufgenommen worden sind. Unabhängig davon, in welche Rubrik die Stoffe, denen gegenüber Resistenz vorliegen kann, einzuordnen sind, können bei den Bakterien mit ubiquitärer Verbreitung unterschiedliche Merkmalskombinationen in Bezug auf die Resistenz gegenüber Antibiotika und Metallionen vorliegen (GEDEK, 1981 a, 1981 c).

Es wurde mir die Aufgabe gestellt, Staphylokokken landwirtschaftlicher Nutztiere hinsichtlich ihrer Resistenzeigenschaften gegenüber einer größeren Zahl von Antibiotika zu überprüfen und zugleich ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber Metallionen zu untersuchen, denen gegenüber die Tierarten Kalb, Schwein und Huhn durch die Anwendung metallischer Verbindungen als Therapeutikum oder als Umweltgifte ausgesetzt sind.

Die dabei erzielten Ergebnisse sollten mit Isolaten vom Hund und insbesondere mit Staphylococcus aureus des Menschen verglichen werden.
Darüberhinaus interessierte in diesem Zusammenhang, welche der nachgewiesenen Eigenschaften der Resistenz gegenüber Antibiotika und Metallionen sich als weitgehend stabil bei Staphylokokken von Mensch und Tier erweist, oder ob bei einigen Merkmalen ein Spontanverlust zu verzeichnen ist, bzw. durch die Behandlung mit sog. "Curing Agents" bei grampositiven Haufenkokken der Gattung Staphylococcus ein Verlust an Resistenzdeterminanten induziert werden kann.

2. SCHRIFTTUM

2.1. Genus Staphylococcus

Das Genus Staphylococcus gehört zur Familie der Micrococcaceae, die darüberhinaus noch die Gattungen Micrococcus und Planococcus umfaßt (BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 1974). Der Gattungsname "Staphylococcus" leitet sich vom griechischen Wort "staphyle" =Weintraube ab und wurde vom schottischen Chirurgen OGSTON im Jahre 1882 geprägt, als dieser traubenförmig angeordnete Kugelmikroben in Eiter wahrgenommen hatte. Die Staphylokokken sind stark grampositiv, unbeweglich, bilden keine Dauerformen, gehören aber trotzdem zu den widerstandsfähigsten Keimen unter den nicht sporenbildenden Bakterien. Der Guanin- Cytosin(GC)- Gehalt der DNS schwankt zwischen 30% bis 40%. Sie wachsen unter aeroben Bedingungen gut auf den gebräuchlichen Nährböden und bilden glatte, undurchsichtige, erhabene Kolonien. Die jeweilige Kolonienfarbe verdanken sie der Bildung von Pigmenten, was Ende des letzten Jahrhunderts von verschiedenen Forschern (ROSENBACH, 1884, PASSET, 1885) zur Artenabtrennung herangezogen wurde, bis sich herausstellte, daß die Pigmentbildung kein hinreichend konstantes Merkmal darstellt. Seit dieser Zeit wurden vielfältige Methoden entwickelt, um zu einer systematischen Einteilung der Staphylokokken zu gelangen. Hauptsächlich aufgrund der Fähigkeit, das Enzym Koagulase zu bilden, wodurch es zur Koagulierung von Kaninchen- und/ oder Menschenplasma kommt, werden die Staphylokokken in koagulasepositive und koagulasenegative Arten eingeteilt (ROLLE und MAYR, 1978; LINCKH,1980).

Vertreter beider Arten sind medizinisch als Krankheitserreger bedeutsam. Die Beteiligung verschiedener Faktoren bei der Entfaltung einer krankmachenden Wirkung illustriert die Abbildung von PEREIRA et al.(1981)(Abb.1).

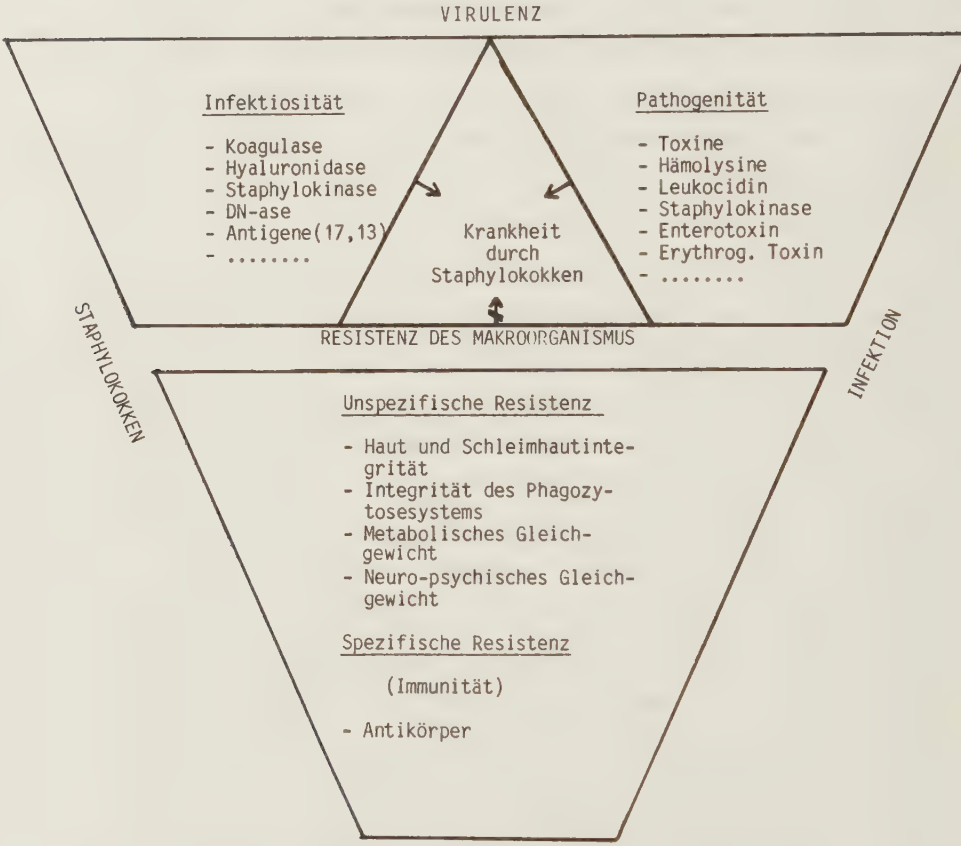


Abb.1: Bedeutsame Faktoren der krankmachenden Wirkung von Staphylokokken nach PEREIRA et al. 1981.

Aufgrund der medizinischen Bedeutung und der sich daraus ergebenden größeren Zahl an Veröffentlichungen genießen die koagulasepositiven gegenüber den koagulasenegativen Staphylokokken vorrangige Beachtung.

2.1.1. Koagulasepositive Staphylokokken

Die Bildung von freier oder zellgebundener Plasmakoagulase ist neben der Bildung einer thermostabilen Nuklease das Hauptkriterium, durch das Staphylococcus aureus von den koagulasenegativen Staphylokokken abgetrennt werden kann (BAIRD-PARKER, 1974; LINCKH, 1980).
Die vor allem auf der Haut und den Schleimhäuten als Bestandteil der residierenden Flora anzutreffende Art ruft als Entzündungs- und Eitererreger Krankheiten hervor, die in der Regel lokal begrenzt sind, aber bei Vorliegen einer Resistenzminderung, wie z.B. nach Operationen, bei Verletzungen oder bei Bestehen eines primären Grundleidens, auch häufig zu Septikämien und Pyämien mit entsprechenden Folgeerscheinungen führen können. Beim Menschen hat S. aureus im Zusammenhang mit der Bildung von Enterotoxin noch zusätzliche Bedeutung als sog. Lebensmittelvergifter erlangt (ROLLE und MAYR, 1978; KLOOS und SCHLEIFER, 1981).
Staphylococcus aureus kommt außer beim Menschen, bei Säugetieren und vielen Vogelarten als Kommensale vor allem in den vorderen Nasenpartien und auf der Haut vor (SMITH, 1965; LACEY, 1981). Staphylococcus aureus gilt als polytypische Spezies und wird hinsichtlich des Vorkommens und der biochemischen Eigenschaften eingeteilt (KLOOS et al., 1976; HAJEK und SCHINDLER, 1981)(Tabelle 1).

Tab. 1: Unterteilung der Spezies Staphylococcus aureus nach Biotypen nach HAJEK und SCHINDLER, 1981.

BIOTYP	HAUPTVORKOMMEN
A	Mensch
B	Geflügel, Schwein, Kaninchen
C	Rind, Schaf
D	Hase
E	Hund, Pferd, Nerz
F	Fuchs, Taube

Da sich die Biotypen E und F in biochemischen Eigenschaften von den Biotypen A-D unterscheiden, werden sie auch als eigene Spezies Staphylococcus intermedius aufgefaßt und Staphylococcus aureus (Biotyp A-D) gegenübergestellt. Zusätzlich wurde von DEVRIESE die Spezies Staphylococcus hyicus mit zwei Subspezies aufgestellt, so daß auch folgende Unterteilung Anwendung findet:

1. Staphylococcus aureus mit den Biotypen A-D
2. Staphylococcus intermedius (= Biotypen E, F)
3. Staphylococcus hyicus subsp., chromogenes und subsp. hyicus.

Hierzu ist aber zu bemerken, daß Staphylococcus hyicus trotz der Befähigung zur Bildung von Koagulase und thermostabiler Nuklease, aufgrund anderer Kriterien verschiedentlich auch den koagulase-negativen Staphylokokken zugeordnet wird (DEVRIESE, 1977; LINCKH, 1980).

Die genannten Einteilungen dürfen jedoch nicht als starr angesehen werden, da es nach KLOOS und SCHLEIFER (1981) und NOVICK (1981) beachtliche Überschneidungen infolge gemeinsamer Biotope für zwei oder mehr Spezies gibt. Nach NOVICK (1981) ist Kreuzkolonisation und -infektion durch verschiedene Spezies durchaus üblich. Denn obwohl der Biotop eine Anpassungsvariation unter Bakterien widerspiegelt, zeigt es sich, daß dies wenig oder kein Hindernis ist für eine Kreuzkolonisation und daß darüberhinaus neue Anpassungsvariationen durch genotypische oder phänotypische Veränderungen entstehen können, nachdem sich ein Organismus auf einem neuen Wirt angesiedelt hat. Es ist daher zweifelhaft, ob es stabile, speziesspezifische Biotope für Staphylococcus aureus gibt (DEVRIESE und OEDING, 1976; NOVICK, 1981). Dieser Auffassung schließen sich auch KLOOS und SCHLEIFER (1981) aufgrund ihrer Untersuchungen zum Vorkommen von Staphylococcus aureus auf Haut und Schleimhäuten von Mensch und Tier an (Tab. 2).

Tab. 2: Vorkommen der Biotypen von Staphylococcus aureus auf der Haut und den Schleimhäuten vom Menschen und von verschiedenen Tierarten (HUMMEL, 1981; KLOOS und SCHLEIFER, 1981).

Mensch	: Überwiegend Biotyp A, in geringem Maße Biotyp C,E.
Lokalisation	: Vorderer Nasenbereich, unbehaarte Haut, Perineum, Intestinaltrakt (höchste Trägerrate bei Jugendlichen, mit zunehmendem Alter abnehmend).
Rind	: Gewöhnlich Biotyp C, aber auch Biotyp A, B, Staphylococcus hyicus.
Lokalisation	: Euterhaut, in den Eutervierteln, selten im Nasenbereich.
Schwein	: Vor allem Biotyp B, selten Biotyp A, C, (wahrscheinlich Kontamination durch Kontakt), Staphylococcus hyicus.
Lokalisation	: Nasenraum, Haut
Schaf	: Wenig untersucht, vor allem Biotyp C, sehr selten Biotyp A und Biotyp C (Kontamination durch Kontakt mit Hunden).
Pferd	: Öfter Biotyp E (Staphylococcus intermedius), gelegentlich Biotyp A, B, C. Es ist fraglich, ob es für das Pferd einen speziellen Biotyp gibt.
Fleischfresser	: In der Regel Staphylococcus intermedius, gelegentlich Biotyp A.
Lokalisation	: Vor allem Haut
Küken	: Biotyp A, B, gelegentlich Staphylococcus hyicus.

Nach KLOOS und SCHLEIFER.(1981)und LACEY (1981) findet sich Staphylococcus aureus auch im Intestinaltrakt des Menschen. Hinsichtlich des Vorkommens im Intestinaltrakt von Haustieren liegen nach LINCKH (1980)widersprüchliche Ergebnisse vor. Es handelt sich bei Staphylococcus aureus offenbar um Passanten des Intestinaltraktes, deren Auftreten stark von der oralen Aufnahme abhängt (z. B. durch kontaminiertes Futter oder, wie bei Welpen, über das Gesäuge der Mutter).

Als fakultativ pathogener Keim ist Staphylococcus aureus an einer Vielzahl von Krankheitsbildern beteiligt. So sind für den Menschen unter anderem beschrieben: Furunkelbildung, Impetigo, toxische Hautnekrose, Osteomyelitis, akute Endokarditis, Mastitis, Prostatitis, Bakteriämie, Abszesse u.a.m.

Bei Tieren tritt Staphylococcus aureus vor allem im Zusammenhang mit Mastitis, Synovitis, Furunkelbildung, eitriger Dermatitis, Abszessen mit unterschiedlicher Lokalisation, Pyämie und Septikämie auf. Staphylococcus hyicus steht im Zusammenhang mit der exsudativen Dermatitis der Schweine, und Staphylococcus intermedius ist gelegentlich mitverantwortlich für die Otitis externa beim Hund (ROLLE und MAYR, 1978; KLOOS und SCHLEIFER, 1981).

Der Zusammenhang zwischen tatsächlicher Krankheitsentstehung und Besiedelung von Mensch oder Tier durch Staphylococcus aureus aus einem atypischen Biotop ist wenig untersucht. HUMMEL (1981) fand bei der Überprüfung von 3.000 Staphylococcus aureus-Isolaten von erkrankten Menschen viermal den bovinen Biotyp. Daneben gibt es Hinweise für das Vorkommen von Biotyp A und B im Zusammenhang mit Mastitis beim Rind (DEVRIESE und HOMMEZ, 1975; DEVRIESE und OEDING, 1976).

Ob solche Untersuchungsergebnisse allerdings von epizootologischer Bedeutung sind, erscheint nach HUMMEL (1981) zweifelhaft.
Die in der Vergangenheit gemachte, kategeorische Einteilung nach koagulasepositive Staphylokokken = pathogen, und koagulasenegative Staphylokokken = apathogen, gilt heute als nicht mehr zutreffend, da häufig auch die letztgenannten in kausalem Zusammenhang mit Krankheitsfällen, v.a. beim Menschen, aber auch beim Tier nachgewiesen werden (KLOOS und SCHLEIFER, 1981). Das Interesse konzentriert sich daher in letzter Zeit zunehmend auch auf die dazugehörigen Arten.

2.1.2. Koagulasenegative Staphylokokken

Lange Zeit war nur Staphylococcus epidermidis als einzige koagulasenegative Art anerkannt (LINCKH, 1980). Aufgrund eingehender biochemischer Untersuchungen können heute 10 Arten koagulasenegativer Staphylokokken unterschieden werden, die unter Berücksichtigung des Verhaltens gegenuber Novobiocin in zwei Hauptgruppen eingeteilt werden können (KLOOS et al., 1976; LINCKH, 1980; GOODFELLOW et al. 1981; KLOOS und SCHLEIFER, 1981). Das Vorliegen von Resistenz gegenüber dem Antibiotikum als ein konstantes, chromosomal verankertes Merkmal, ist eine Eigenschaft der Spezies S. xylosus, S. cohnii, S. saprophyticus und S. sciuri mit den Subspezies sciuri und lentus. Für die genannten Spezies ist unter anderem auch die aerobe Säurebildung aus D- Mannit charakteristisch.
Als Novobiocin- sensibel gelten die Arten S. homonis, S. warneri, S. haemolyticus, S. epidermidis und S. capitis (LINCKH, 1980; KLOOS und SCHLEIFER, 1981). Die Stellung von S. simulans innerhalb der

koagulasenegativen Staphylokokken ist stattdessen nicht klar. KLOOS et. al. (1976) sehen bei dieser Art eine Verwandtschaft mit koagulasepositiven Staphylokokken.

Koagulasenegative Staphylokokken sind größtenteils weiter verbreitet als die koagulasepositiven Arten, was auf die in manchen Fällen, wie bei S. xylosus und S. sciuri subsp. sciuri, sehr geringen Wachstumsansprüche zurückzuführen sein soll. Von KLOOS und SCHLEIFER (1981) wurde das Vorkommen von koagulasenegativen Staphylokokken auf der Haut von Menschen und Tieren untersucht. Hierbei fanden sich beim Menschen bis zu 9 verschiedene Spezies mit Ausnahme von S. sciuri. Die Isolierungshäufigkeit war verschieden, jedoch fanden sich S. epidermidis und S. hominis in 100 % der untersuchten Fälle. Die genannten Arten, sowie S. capitis und S. simulans gelten als wirtsspezifisch für den Menschen. Hinsichtlich des gelegentlichen Auftauchens von S. xylosus auf der Haut des Menschen fand sich stets eine positive Korrelation zur Haltung von Heimtieren oder zur landwirtschaftlichen Tierproduktion, so daß eine zufällige Kontamination anzunehmen ist (KLOOS et. al., 1976). Über das Vorkommen von koagulasenegativen Staphylokokken auf der Haut von Tieren sind die Angaben wenig detailliert. Nach KLOOS und SCHLEIFER (1981) findet man bei Rind und Pferd vor allem S. xylosus, beim Schwein weitgehend, wenn auch viel seltener, die auch beim Menschen vorkommenden Arten, was auf eine Übertragung vom Menschen auf das Schwein zurückzuführen sein kann.

Beim Schaf herrschen S. xylosus und S. sciuri subsp. lentus vor, während beim Fleischfresser neben S. xylosus gelegentlich auch S. sciuri subsp. sciuri isoliert wurde (KLOOS und SCHLEIFER, 1981). Mehr ins einzelne gehende Angaben macht DEVRIESE (1977) über die Zugehörigkeit der koagulasenegativen Staphylokokken des Euters von Rindern. Fast 90 % der isolierten koagulasenegativen Staphylokokken waren einer der nachfolgenden Spezies S. xylosus, S. epidermidis, S. sciuri, S. haemolyticus, S. hyicus subsp. hyicus, S. hyicus subsp. chromogenes, S. simulans, S. cohnii zuzuordnen. Die Erwähnung von S. hyicus als Vertreter der koagulasenegativen Arten weist erneut auf die unterschiedliche Auffassung bezüglich der Klassifizierung der Spezies hin.

Aus dem dargestellten Sachverhalt ergibt sich, daß das Wirtsspektrum mancher Arten kaum begrenzt ist, während anderen Spezies im Vorkommen eine gewisse Wirtsspezifität zu eigen ist (KLOOS und SCHLEIFER, 1981). Insgesamt sind die Wachstumsansprüche der bei Tieren hauptsächlich anzutreffenden Spezies geringer als die des Menschen. Ein weiterer, eindeutiger Unterschied besteht darin, daß die koagulasenegativen Staphylokokken-Stämme von Tieren sich überwiegend als Novobiocin-resistent erweisen und dadurch anderen Arten angehören als die des Menschen (KLOOS et al., 1976). Nach den Untersuchungen von LINCKH (1980) trifft das auch für die Intestinalflora von Huhn und Schwein zu, wobei der Anteil koagulasenegativer Arten mit Novobiocinresistenz bei 83,8 %, bzw. 60,0 %, lag. Bis auf S. capitis waren nahezu alle bekannten Spezies, wenngleich mit verschiedener Häufigkeit, vertreten.

Die nachgewiesene Artenvielfalt wird auch von anderen Untersuchern bestätigt. Das Überwiegen koagulasenegativer Vertreter mit gleichzeitig bestehender Novobiocinresistenz deutet auf die Dominanz der hauptsächlich saprophytisch lebenden Arten von Tieren hin (LINCKH, 1980).

Medizinische Bedeutung erlanten bislang koagulasenegative Staphylokokken vor allem beim Menschen und erwiesen sich dann meist als Novobiocin- sensibel. So wird Staphylococcus epidermidis häufig in Fällen von Endocarditis und im Zusammenhang mit bakteriellen Komplikationen nach dem Einsetzen von Implantaten am Herzen isoliert. Staphylococcus saprophyticus findet sich häufig in Fällen von Harnweginfektionen.

Bei Erkrankungen von Tieren werden koagulasenegative Staphylokokken vor allem im Zusammenhang mit Mastitis bei Wiederkäuern erwähnt (DEVRIESE, 1977; KLOOS und SCHLEIFER, 1981).

2.2. Auftreten von Chemoresistenz bei Staphylokokken

2.2.1. Resistenzentwicklung

Resistente Organismen tauchten schnell nach der umfangreichen Anwendung von toxischen Substanzen auf. Die ersten Berichte (1887) darüber betreffen die "Akklimatisation" von Bacillus subtilis gegen die verwendeten Antiseptika Quecksilberchlorid und Borsäure. 1907 entdeckte Paul EHRLICH die Resistenz von Trypanosomen gegen Arsenikalien (KOCH, 1981). Eine ähnliche Resistenzentwicklung fand gegen Antibiotika und Chemotherapeutika statt. Der zunächst unaufhaltsam erscheinende Siegeszug des Penicillins wurde schon nach kurzer Zeit, um die Wende der Vierziger Jahre, durch das Auftreten Penicillinase-bildender Staphylokokken stark verlangsamt. Die Folge war, daß vermehrt inzwischen neuentdeckte Antibiotika wie Tetracyclin, Streptomycin, Makrolide und Chloramphenicol stattdessen in Therapie und Prophylaxe bakterieller Erkrankungen zum Einsatz gelangten. Dieser Einsatz war aber im Gegenzug zumeist erneut mit dem alsbaldigen Auftreten von Resistenz verbunden (PLORDE und SHERRIS, 1974; KOCH, 1981; SCHRINNER, 1981). Daraufhin wurde von LACEY im Jahre 1975 herausgestellt, daß das einzige Antibiotikum, gegen das es keine Resistenz bei Staphylococcus aureus gibt, das Gentamycin sei . KAYSER et. al. (1976) bemerkten dazu allerdings, daß es wahrscheinlich nur eine Frage der Zeit sei bis zum Auftreten von Resistenz

auch gegenüber diesem Antibiotikum, dessen Erscheinen unter entsprechenden Selektionsbedingungen dann rasche Verbreitung finden würde. Diese Prognose erwies sich als richtig, wie unter anderem Untersuchungen von VOGEL et. al. im Jahre 1978 ergeben haben.

Resistenz gegenüber antibakteriellen Stoffen stellt also seit deren Einführung in die Medizin, sei es als Pharmakon oder auch als Desinfektionsmittel, ein Problem dar, das zudem steigende Tendenzen aufweist, da sich in den letzten Jahren insbesondere nochmals das Verhältnis von resistenten zu sensiblen Keimen zugunsten der ersteren verschoben hat (OEDING, 1978; GEDEK, 1981a). Dies trifft jedoch nicht im gleichen Umfang für alle Arzneimittel und alle Keime zu (DIERK et. al. 1976; GEDEK, 1981a, SCHRINNER, 1981). Ende der Vierziger Jahre waren bereits 50 % der untersuchten Staphylokokkenstämme gegenüber Penicillin G resistent, während fast alle Stämme von Streptokokken der Gruppe A sich nach wie vor gegenüber Penicillin G als empfindlich erwiesen (DIERK et. al.,1976). Weitere Differenzen in der unterschiedlichen Ansprechbarkeit der Keime lassen sich der Tabelle 3 entnehmen.

Tab. 3: Häufigkeit resistenter Bakterienstämme (in Prozent) nach PAUL-EHRLICH-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. (1982).

	Quelle	mm	*Escherichia coli*	*S.-Imonella*	*Citrobacter*	*Klebsiella*	*Enterobacter*	*Serratia*	*Proteus mirabilis*	Protease ind. +	*Pseudomonas aeruginosa*	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus faecalis*
Penicillin G**	A	12										69	3
Ampicillin**	A	13	22	4	(52)	(89)	(67)	(77)	14	(78)		68	1
Carbenicillin	A	15	17	4	29	52	29	37	10	7	17	1	1
Oxacillin	A	15										1	90
Azlocillin	A	12	19	3	31	36	35	45	9	13	9	34*	1
Mezlocillin	A	15	12	1	22	30	27	40	6	6	(35)	49*	1
Piperacillin	K	13	5	0	8	24	13	8	3	3	2	64*	0
Lamoxactam	E	14	0	0	2	1	10	6	1	0	10	0	
Cephalotin	C	14	8	0	46	15	(76)	(90)	6	(82)		1	(19)
Cefazolin	B	14	3	0	36	12	(63)	(82)	7	(83)		1	(33)
Cefamandol	C	14	2	0	20	11	32	47	2	25		1	(54)
Cefuroxim	B	14	3	0	18	4	28	56	3	66		1	(61)
Cefoxitin	C	14	3	0	61	4	73	33	1	6		1	(96)
Cefotaxim	J	22	1	0	12	1	21	11	1	0	(83)	2	(76)
Cefoperazon	F	13	0	0	0	9	6	8	4	3	6	0	(17)
Cefadroxil	G	14	3	0	22	4	57	76	12	80		2	(88)
Cefsulodin	H	11	(38)	(2)	(45)	(68)	(67)	(90)	(51)	(88)	3	(0)	(96)
Streptomycin	C	11	31	9	23	18	26	30	16	15	(48)	18	
Kanamycin	C	13	12	5	16	17	26	34	11	12	(62)	18	
Gentamicin	A	14	1	0	5	7	11	14	4	2	14	9	
Sisomicin	I	14	1	0	5	2	7	8	3	2	11	10	
Tobramycin	C	12	1	0	4	4	11	10	2	2	8	9	
Amikacin	D	9	1	0	1	0	4	0	1	1	1	2	
Sulfamethoxazol	B	14	58	63	47	60	54	63	46	48		36	36
Cotrimoxazol	C	10	13	2	14	14	12	12	11	9		10	5
Tetracyclin	A	16	33	10	26	22	24	40				21	(62)
Minocyclin	B	16	24	9	36	30	40	33				7	(61)
Chloramphenicol	C	12	17	6	15	21	23	34	15	20	(56)	7	26
Nitrofurantoin	A	10	4	5	5	6	13	53	29	16		5	1
Nalidixinsäure	A	13	2	0	5	7	6	2	4	3			
Erythromycin	A	18										15	35
Lincomycin	A	18										3	
Colistin	B	10	1	0	5	2	9	41			0		

A) Nach DIN-Entwurf 58940, September 1979 (5)
B) Vorläufige Grenzwerte nach Auswertung der PEG-Studie
C) Nach NCCLS, Oktober 1979 (4)
D) Nach *Washington* et. al. (11)
E) Nach *Barry* et al. (12)
F) Basisinformation Pfizer
G) Basisinformation Ciba Geigy
H) Basisinformation Chemie Grünenthal
J) Nach *Primavesi* (13)
K) Nach *Barry* et. a. (14)
( ) Erläuterung siehe Text

* Angegebene Zahl entspricht der Summe aus mäßig sensiblen und resistenten Anteilen (siehe Text).
** Für *Staphylococcus aureus* gilt: resistent ≥ 28 mm.

Epidemiologische Studien veranlaßten LACEY (1981) zu folgenden Überlegungen bezüglich des Problems Arzneimittelresistenz:

1. Bei Einführung eines neuen Antibiotikums sind die Mehrzahl, wenn nicht sogar alle Isolate, sensibel.
2. Diese Empfindlichkeit dauert etwa 10 Jahre.
3. Bei Auftreten von Resistenz werden lokale Epidemien anfangs durch einen einzelnen Stamm verursacht.
4. Dem folgt das Auftreten von Resistenz bei einer Vielzahl von verschiedenen Stämmen.
5. Mit der Anwendungsbeschränkung des betreffenden Antibiotikums, gegenüber welchem sich Resistenz entwickelte, steigt der Anteil von sensiblen Stämmen wieder an.

Die unmittelbaren Ursachen, die der Resistenzentwicklung zugrunde liegen, sind in Antibiotikatherapie und Prophylaxe zu suchen, denen vor allem bei ungenügenden therapeutischen Wirkstoffspiegeln und ungenügender Therapiedauer häufig nur ein bakteriostatischer Effekt zukommt (KUSCH, 1972). Auch das umfangreiche Auftreten von resistenten Staphylokokken im tiermedizinischen Bereich ist dem breiten Einsatz bestimmter Arzneimittel in hoher Dosierung zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten zuzuschreiben, wohingegen wachstumsfördernde Dosierungen keinen ernstzunehmenden Beitrag dazu leisteten (FUSSEL, 1981; LACEY, 1981). Das Auftreten von Antibiotika-resistenten Bakterien steht nach RICHMOND (1981) sicher in erster Linie im Zusammenhang mit der früher zumeist unkontrollierten Anwendung von Antibiotika und synthetischen Chemotherapeutika.

2.2.2. Induzierbare und konstitutive Resistenz

Dem Phänotypus nach kann bei Staphylokokken zwischen zwei Arten von Resistenz unterschieden werden, nämlich zwischen induzierbarer und konstitutiver Resistenz. Insbesondere gegenüber Antibiotika sind diese beiden Formen von Resistenz nachgewiesen worden.

2.2.2.1. Induzierbarer Phänotypus

Bei dieser Form von Resistenz befindet sich das Bakterium in einem Zustand, bei dem es über alle notwendigen Informationen für eine Resistenz gegen ein bestehendes Antibiotikum verfügt, die Umsetzung dieser Information erfolgt jedoch erst dann, wenn der Keim geringen Konzentrationen des betreffenden oder eines verwandten Antibiotikums ausgesetzt ist. Eine solche Adaptation erfolgt schnell, sie ist relativ spezifisch wirksam und reversibel (ALLEN, 1977). Sie äußert sich im raschen Erwerb der Fähigkeit, in Gegenwart von Antibiotikaspiegeln zu wachsen, gegen die ursprünglich Empfindlichkeit besteht. Für Staphylococcus aureus gilt beispielsweise, daß auf eine Induktion durch 1 µg/ml Erythromycin Resistenz gegenüber Konzentrationen bis zu 50 µg/ml und mehr innerhalb weniger Stunden in Erscheinung tritt (CONNAMACHER, 1976). Die Umkehrung der Induktion erfolgt in diesem Fall innerhalb weniger Stunden. Dem Mechanismus der Induzierbarkeit liegt die Anschauung zugrunde, daß ein Regulator-Gen für die Bildung einer Repressorsubstanz verantwortlich ist, die ein Operator-Gen

hemmt, was seinerseits die Expression von bestimmten Struktur-Genen verhindert. Ein induzierend wirkender Stoff antagonisiert diese Wechselwirkung und erlaubt so die Expression von Struktur-Genen, was z.B. die Bildung von ß-Lactamase zur Folge hat (CONNAMACHER, 1976). Beispiele für Induzierbarkeit bei Staphylococcus aureus sind die Penicillinresistenz, Tetracyclinresistenz und Makrolidresistenz (CONNAMACHER, 1976; ALLEN und EPP, 1978; FUSSELL, 1981). Letzterer Fall kommt nach DEVRIESE (1980a) beim Tier nur bei Staphylococcus aureus von Rind und Geflügel vor. Die Eigenschaft der Induzierbarkeit der Resistenz kann man sich nach ALLEN und EPP (1978) für die Therapie gegen Antibiotika -resistente Keime zu Nutze machen. Es stellte sich nämlich heraus, daß Isolate von S. aureus mit induzierbarer Resistenz gegen Penicillin und Erythromycin gegen eine Kombination beider Antibiotika sensibel sind. Der synergistische Effekt beruht auf einer Hemmung der Induktion der Penicillinase-Synthese durch Erythromycin. Neben Erythromycin sind z.B. auch Chloramphenicol und Tetracyclin in Kombination mit Penicillin in dieser Art und Weise wirksam (ALLEN und EPP, 1978).

2.2.2.2. Konstitutiver Phänotypus

Die konstitutive Resistenz unterscheidet sich von der induzierbaren dadurch, daß der Resistenzfaktor konstant ausgedrückt wird, unabhängig davon, ob eine Exposition gegenüber einem Antibiotikum bestand oder nicht (CONNAMACHER, 1976).

Beispiele für konstitutive Resistenz bei S. aureus sind Makrolidresistenz (vor allem bei tierischen Isolaten), Streptomycinresistenz gegen hohe Konzentrationen und Tetracyclinresistenz (CHOPRA, 1976; DEVRIESE, 1980a; OSOWIECKI et al., 1981). Die Resistenztypen bei S. aureus gegen Makrolide und verwandte Antibiotika stellen sich nach GEDEK (1981a) wie in Tabelle 4 gezeigt dar.

Tab. 4: Resistenztypen bei S. aureus gegen Makrolide und verwandte Antibiotika (GEDEK, 1981a)

Resistenztyp	Erythro-mycin	Oleando-mycin	Spira-mycin	Linco-mycin	Virginia-mycin	Pristina-mycin
I induzierbar dissoziert heterogen	R	S	S	S	S	
II induzierbar dissoziert homogen	R	R	S	V	S	
III konstitutiv	R	R	R	R	S	

Zeichenerklärung: R = resistent, S = sensibel, V = variabel, d.h. resistent oder sensibel

Wie bei Vorliegen einer Antibiotikaresistenz kann auch die Metallionenresistenz in induzierbarer (Quecksilber, Arsenat) und konstitutiver Form (Cadmium, Arsenit, Antimon, Blei) vorliegen. Die Induktion bewirken dabei organische und anorganische Quecksilberverbindungen, oder Arsenat sowie Arsenit (NOVICK und ROTH, 1968; KONDO et al., 1974; KONDO et al., 1976; SILVER, 1981; SILVER et al., 1981). Die Deduktion der Quecksilberresistenz erfolgt innerhalb von 24 Stunden.

2.2.3. Mehrfachresistenz gegenüber Antibiotika

Antibiotikaresistente, dabei häufig gleichzeitig gegenüber mehreren Stoffen nicht ansprechende Staphylokokken kommen weit verbreitet in der Umwelt vor und sind mit ziemlicher Regelmäßigkeit in der Faecalflora von Mensch und landwirtschaftlichen Nutztieren zu finden, nicht zuletzt als Folge der parallelen Anwendung der Antibiotika in der Human- und der Tiermedizin (PLORDE und SHERRIS, 1974; NOVICK, 1981). Eine Mehrfachresistenz ist stets auf die Gegenwart entsprechender Resistenzfaktoren zurückzuführen (NOVICK und MORSE, 1967; MITSUHASHI, 1980). Dabei hat die Anwendung von Antibiotika größtenteils die Anzahl Plasmid-tragender Bakterienzellen erhöht und durch einen Selektionseffekt die Resistenzausbreitung begünstigt (SCHÖN und PLACHKA, 1977). Zur Ausbreitung resistenter Keime kommt es außer durch Selektion noch durch die Aufnahme resistenter Keime aus der Umgebung des Menschen oder von Tieren, entsprechend einem Recycling-Prozeß (DIERK et al., 1976; NOVICK, 1981).

Das Vorkommen resistenter Staphylokokken hängt nach PLORDE und SHERRIS (1974) mit der Reduzierung sensibler Keime durch Antibiotikatherapie zusammen, wobei auch schon Spuren von Antibiotika genügen können, um sensible Staphylococcus aureus Stämme zu hemmen, da diese Keime sich allgemein durch höhere Empfindlichkeit auszeichnen als ausnahmslos saprophytäre Arten.
Lange Zeit wurde der Einfluß wachstumsfördernder Dosierungen von Antibiotika auf diese Entwicklung herausgestellt. Dies gilt inzwischen für die im Einsatz befindlichen Stoffe als widerlegt, da unter den verwendeten Konzentrationen ein einseitiger, zu einer Resistenzentwicklung erforderlicher Selektionsdruck nicht zustande kommt. Demzufolge sind als Wachstumsförderer geeignete Antibiotika auch nach 20 bis 30 Jahren kontinuierlichen Einsatzes noch nutritiv wirksam (KNOTHE, 1977a, 1977b; FUSSELL, 1981).
In Deutschland sind heute aufgrund der 20. Richtlinie der Kommission Landwirtschaft der EG vom 7.12.1977 für nutritive Zwecke nur mehr Antibiotika zugelassen, die als Chemotherapeutika nicht, oder nur zur lokalen Behandlung beim Menschen eingesetzt werden (GEDEK, 1981b).
Bei den zugelassenen Antibiotika handelt es sich um:
Avoparcin, Zinkbacitracin, Flavomycin, Virginiamycin, Tylosin, und andere Makrolide sowie um Polymyxin B und Furane (GEDEK, 1980).

Die stärkste Auswirkung auf die Resistenzentwicklung kommt der Verabreichung von Antibiotika in therapeutisch wirksamer Dosierung zu (FUSSELL,1981; LACEY, 1981). In der Tierhaltung erfolgt die Versorgung mit Medikamenten vor allem über das Futter. Diese Fütterungsarzneimittel bestehen in der Regel aus Kombinationen von mehreren Wirkstoffen, die bestimmten Keimen einen selektiven Vorteil verschaffen und deren Verbreitung im Bestand begünstigen. Diese Präparate, die nicht etwa nur aus einem Wirkstoff bestehen, sind die wirksamsten Selektoren,wenn es um Keime mit multipler Chemoresistenz geht. Bei Staphylokokken landwirtschaftlicher Nutztiere bewirkt dieser Einsatz gleichzeitig eine Selektion der pathogenen Spezies (GEDEK, 1981a und 1981b). Auch nach NOVICK (1981) findet sich S. aureus häufiger auf Tieren, an die Antibiotika mit dem Futter verabreicht worden waren.
Die jeweiligen Resistenzquoten gegenüber Antibiotika unterliegen bei Staphylokokken gewissen Schwankungen. Sie ergeben sich aus regionalen Unterschieden,der Herkunft der Isolate und hängen vom jeweiligen Wirtsorganismus, von dem Probenmaterial entnommen wurde, ab (Tabelle 5). Es spiegelt sich darin der unterschiedliche therapeutische Einsatz von antibakteriellen Stoffen wider, sowie auch speziesbedingte Variationen im Vorkommen solcher Keime (JELJASZEWICZ et al., 1976; GEDEK, 1980; LACEY, 1981) . Im humanmedizinischen Bereich finden sich besonders bei Klinikisolaten von Staphylokokken hohe Resistenzquoten, wobei nach MITSUHASHI (1980) mehrfachresistente zuweilen mehr als 50 % der Isolate ausmachen.

Tab. 5: Antibiotikaresistenz bei Staphylokokkenspezies verschiedener Herkunft (Angaben in Prozent).

Autoren	Spezies	Herkunft	P	A	O	KF	T	C	E	L	VI	S	K
NAVASIN und FOMINA, 1972	S.aureus	Mensch, Hospital/ UdSSR	54,5	50,0	NT	NT	71,3	49,3	37,3	NT	NT	69,1	17,3
KONDO et al., 1976	S.aureus	Mensch	88,4	NT	NT	NT	31,4	20,9	39,4	NT	NT	25,5	20,0
NAKAHARA et al., 1977	S.aureus	Mensch, Hospital/ Japan	87,3	NT	NT	NT	33,5	22,7	43,0	NT	NT	28,5	23,9
FUSSELL, 1981	S.aureus	Mensch, Nasen-Rachen-Raum/Belgien	79,3	79,3	0,0	0,1	3,5	0,7	2,3	0,7	0,0	NT	NT
FUSSELL, 1981	S.aureus	Mensch, Nasen-Rachen-Raum/BRD	56,9	56,9	0,0	0,2	0,4	1,5	1,1	0,7	0,0	NT	NT
DEVRIESE, 1980a	S.aureus	Schwein, 1979-80	70,0[a]	NT	NT	NT	29,0	2,0	27,0[b]	39,0	NT	50,0	NT
DEVRIESE, 1980a	S.aureus	Geflügel, 1979-80	39,0[a]	NT	NT	NT	27,0	8,0	20,0[b]	25,0	NT	29,0	NT
DEVRIESE, 1980a	S.aureus	Rind, Mastitis, 1979-80	76,0[a]	NT	NT	NT	5,0	1,0	2,0[b]	5,0	NT	33,0	NT
WEIS und GROSSER, 1981	S.aureus	Hund	20,0	1,4	NT	NT	32,3	26,7	21,3	NT	NT	44,0	20,3
LINCKH, 1980	Staph.spp.	Huhn, Faeces	24,5	17,0	4,7	0,0	67,9	48,1	63,2	46,2	7,5	24,5	5,7
LINCKH, 1980	Staph.spp.	Schwein, Faeces	9,1	5,5	4,5	0,0	60,0	29,1	83,6	81,8	0,0	50,0	0,0
GEDEK und LINCKH, 1981	Staph.spp.	Mensch	72,5	NT	NT	NT	90,0	56,3	51,2	NT	NT	46,3	28,6
GEDEK und LINCKH, 1981	Staph.spp.	Kalb	2,2	NT	NT	NT	74,5	59,9	78,3	NT	NT	72,4	37,4
GEDEK und LINCKH, 1981	Staph.spp.	Broiler	21,5	NT	NT	NT	67,1	56,3	73,4	NT	NT	57,0	6,4

a = Penicillinase-labile Penicilline, b = Makrolidantibiotika, c = Kanamycin/Neomycin

P = Penicillin, A = Ampicillin, O = Oxacillin, KF = Cephalotin, T = Tetracyclin, C = Chloramphenicol, E = Erythromycin, L = Lincomycin, VI = Virginiamycin, S = Streptomycin, K = Kanamycin.

Resistenz nur einem Antibiotikum gegenüber findet man v.a. gegenüber Chloramphenicol oder Tetracyclin (SCHÖN und PLACHKA, 1977).
In den letzten Jahren ist nach GEDEK und LINCK (1981) bei Staphylokokken des Menschen v.a. Gentamycin- und Kanamycin-/Neomycinresistenz im Zunehmen begriffen. Untersuchungen koagulasenegativer Staphylokokken des Menschen bestätigen dies ebenfalls. Insbesondere die Klinikisolate von S. epidermidis erweisen sich als mehrfachresistent und übertreffen bezüglich Aminoglykosidresistenz darin sogar die S. aureus-Stämme (AKATOV et al., 1981; BRUN et al., 1981).
Bei gesunden Trägern von S. aureus sind die Isolate aus dem Nasen-Rachenraum gewöhnlich bedeutend weniger resistent (KUSCH et al., 1972; KAYSER et al., 1976) als von kranken Individuen.
Nach MITSUHASHI et al. (1976 a) kann man Hospitalstämme von S. aureus danach unterteilen in solche, die bereits mehrfachresistent sind und leicht neue Resistenzen hinzugewinnen, und andere, die in begrenztem Umfang Resistenz aufweisen und langsam Resistenz gegenüber neuen Stoffen erwerben.
Die Resistenzquoten der Staphylokokken vom Tier sind je nach Tierart verschieden. Während bei S. aureus-Stämmen vom Schwein und Rind die Penicillinresistenz in den letzten Jahren zunahm, war bei Stämmen von Geflügel eine gegenteilige Entwicklung zu verzeichnen. Bei der Tetracyclinresistenz war allgemein eine Abnahme zu verzeichnen, möglicherweise aufgrund der Einschränkung der Verwendung der klassischen Tetracycline in der Tierproduktion seit 1977. Sie betraf auch die Mastitis-Staphylokokken des Rindes.

Eine abnehmende Tendenz war auch in Bezug auf die Makrolid- und Lincomycinresistenz bei S. aureus und S. hyicus vom Schwein festzustellen. Die Resistenzquoten gegenüber Penicillinase-festen Penicillinen, den Cephalosporinen, blieben dagegen bei allen Tierarten weitgehend konstant. Bei Broilern und Zuchthennen war stattdessen eine Zunahme der Novobiocinresistenz zu verzeichnen, was auf den therapeutischen Einsatz beim Geflügel zurückgeführt werden kann. Bei Geflügel und Rind fanden sich Stämme des S. aureus, die nur resistent gegenüber Lincomycin waren, während sie auf andere Antibiotika aus der Makrolid-Lincosamin-Streptogramin-Gruppe (MLS) empfindlich reagierten. Allgemein gilt S. aureus vom Tier als weitgehend sensibel gegenüber Makrolidantibiotika, Tetracyclinen, Streptomycin und Chloramphenicol, im Gegensatz zu den überwiegend koagulasenegativen, saprophytischen Staphylokokken der Faecalflora, die gegenüber diesen Antibiotika sehr häufig resistent sind. Gegenüber ß-Lactamantibiotika erwiesen sie sich in der Regel als sensibel (KAYSER et al., 1976; GEDEK, 1980).
Tierische Staphylokokken zeigten sich bis jetzt gegenüber Aminoglycosiden, ausgenommen das Verhalten gegenüber Streptomycin und Kanamycin/Neomycin, als sensibel. Die Resistenz gegenüber Streptomycin ist oft assoziiert mit einer gleichzeitigen Resistenz gegenüber Kanamycin/Neomycin, aber nicht umgekehrt (GEDEK und LINCKH, 1981).
Besonderheiten hinsichtlich der Antibiotikaresistenz von Staphylokokken wurden in Bezug auf Makrolidresistenz nachgewiesen. Während bei Isolaten des Menschen überwiegend der induzierbare Typ der Resistenz gegenüber den Makroliden festzustellen war, der oft

mit Kanamycinresistenz assoziiert zu sein scheint, lag bei Stämmen vom Tier, mit Ausnahme von Kalb und Geflügel, meist der konstitutive Typ vor, gekennzeichnet durch hohe Unempfindlichkeit gegenüber allen Makroliden sowie Lincosaminen. Dieser Resistenztyp ist häufig assoziiert mit Tetracyclin- oder Streptomycin- und/oder Chloramphenicolresistenz. Andererseits scheint dieser Resistenztyp gleichzeitige Resistenz gegen Kanamycin/Neomycin auszuschließen (GEDEK und LINCKH, 1981; GEDEK, 1981a). Makrolidresistente Staphylokokken vom Tier sind nach LACEY (1981) auch selten Spektinomycin-resistent (4%) im Vergleich zu Stämmen vom Menschen (94%).

Die differenzierte Natur der Makrolidresistenz, sowie der allgemeine Unterschied im Vorkommen von Antibiotikaresistenz bei Staphylokokken von Mensch und Tier belegen auch, daß ein Gentransfer zwischen den jeweiligen Spezies nur von untergeordneter Bedeutung sein kann (GEDEK, 1981a; LACEY, 1981).

Generell drei verschiedene biochemische Mechanismen können nach CHOPRA (1976) für eine Resistenz gegenüber Antibiotika verantwortlich sein:

1. Unempfindlichkeit durch Änderung des intrazellulären Angriffspunktes des Arzneimittels.
2. Synthese von Enzymen, die Antibiotika hydrolysieren oder modifizieren und somit inaktivieren.
3. Veränderung der Zelloberfläche, wodurch die Wirkstoffaufnahme verhindert wird.

Abgesehen von Erythromycinresistenz und bestimmten Typen der Streptomycinresistenz ist die Unwirksamkeit von Antibiotika gegenüber S. aureus meist der Kategorie 2 und 3 der Resistenzmechanismen zuzuschreiben. Über die Einzelheiten der Veränderung der Zelloberfläche und dadurch behinderter Wirkstoffaufnahme herrscht noch weitgehend Unklarheit.

Nach JACOBY und SWARTZ (1980) kommen für die Plasmid- vermittelte Antibiotikaresistenz die in Tabelle 6 aufgeführten Mechanismen in Frage.

Für Aminoglykoside und ß- Lactamantibiotika ist darüberhinaus auch eine Zellwand-unabhängige Blockade der Wirkstoffaufnahme für eine verminderte Ansprechbarkeit verantwortlich, sowie für Penicilline auch eine adaptierte Transpeptidase als Resistenzfaktor in Betracht zu ziehen (SABATH et al., 1974; BRUNS und KEPPLER, 1976; JACOBY und SWARTZ, 1980).

Tab. 6 Mechanismen der Plasmid- vermittelten Antibiotikaresistenz nach JACOBY und SWARTZ (1980).

Arzneimittel	Resistenzmechanismus
Aminoglykoside	
Amikacin	6'-N- acetyltransferase
Gentamicin	3- und 6'-N- acetyltransferase
	2"-O- adenyltransferase
Kanamycin	6'-N- acetyltransferase
	2"-O- adenyltransferase
	3'-O- phosphotransferase
Streptomycin	3"-O- adenyltransferase
	3"-O- phosphotransferase
Spektinomycin	3"-O- adenyltransferase
Tobramycin	3- und 6'-N- acetyltransferase
	2"-O- adenyltransferase
ß- Lactamantibiotika	
Penicilline	verschiedene ß- Lactamasen
Chloramphenicol	3-O- acetyltransferase
Erythromycin	Methylierung der 23S ribosomalen RNA
Lincomycin	" " " " "
Sulfonamide	Ersatz der Dihydropteroatsynthetase
Tetracycline	verminderte Aufnahme
	Hemmung der intrazellulären Wirkung
Trimethoprim	Ersatz der Dihydrofolatreduktase

2.2.4. Mehrfachresistenz gegenüber Chemotherapeutika und Metallionen

Effekte der Kontamination der Umwelt mit Chemikalien (Quecksilber, Cadmium, Bleisalze u.a.m.), auch wenn diese unterschwellig sind, interessieren in Bezug auf ihre Interaktion mit Mikroorganismen. Sie verdienen vom medizinischen Standpunkt Beachtung, da es nachweislich eine Beziehung zwischen der Resistenzentwicklung gegen Antibiotika einerseits und der Resistenz gegenüber Metallionen andererseits gibt. Es konnte nachgewiesen werden, daß die Exposition von Industriearbeitern gegenüber Quecksilberverbindungen mit einer zunehmenden Besiedelung der Nasenräume mit Antibiotika- und Quecksilber-resistenten Staphylokokken assoziiert ist (GROVES et al. 1975).

Von RICHMOND und JOHNSTON (1964) wurde gezeigt, daß Staphylokokken, die Infektionen in der Umgebung einer Operationsnaht hervorriefen, ein Plasmid beherbergen, daß ihnen nicht nur Resistenz gegen Penicillin verleiht, sondern auch ein Wachstum in Gegenwart Quecksilberhaltiger Verbindungen ermöglicht, mit denen man das Nahtmaterial desinfiziert hatte (NOVICK, 1980). Inzwischen ist bekannt, daß viele Gene, die für Metallionenresistenz codieren, sich auf Plasmiden befinden (GROVES et al.1975). Plasmidgebundene Resistenzdeterminanten gegen Metallionenverbindungen sind neben Quecksilber bekannt für Cadmium, Blei, Wismut, Antimon, Zink, Arsenat, Arsenit und Chrom (NOVICK und ROTH, 1968). GROVES und YOUNG (1975) erwähnen darüberhinaus eine Assoziation von Kupfer- und Penicillinresistenz

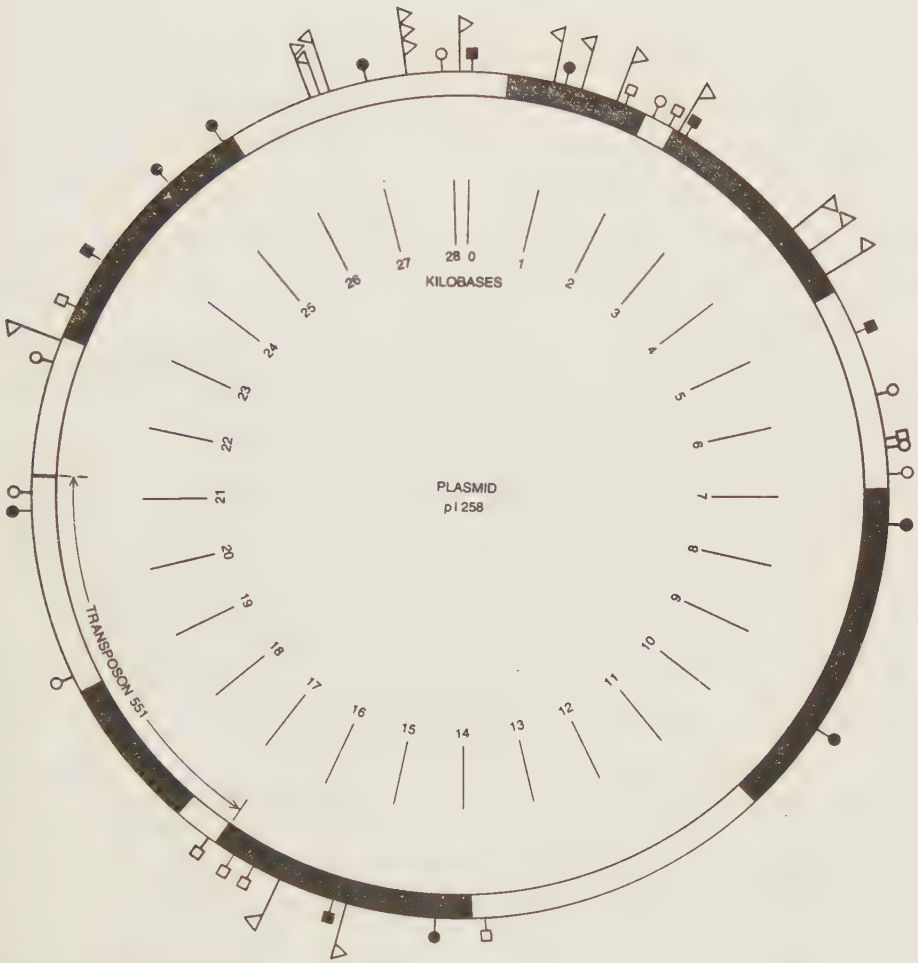


Abb. 2 : Genkarte des Staphylokokkenplasmids pI 258 nach NOVICK (1980). Determinanten für Resistenz gegen: Anorganische(merA) und organische (merB) Quecksilberverbindungen, Cadmium(cad), Wismut- und Bleiverbindungen(bis,lea), Penicillin(bla), Arsenat-(asa) und Arsenitionen (asi), Antimon(ant) und Erythromycin(ermB).

bei koagulasepositiven Staphylokokken. Sehr häufig werden Metallionenresistenzen durch die Penicillinaseplasmide vermittelt (Abbildung 2), die neben anderen häufig auch Gene für Resistenz gegenüber Erythromycin und anderen Antibiotika tragen (NOVICK und ROTH, 1968; CHOPRA, 1975; TYNECKA und ZYLINSKA, 1977). Hierbei können fast immer separate Genorte angegeben werden, die aber häufig gekoppelt vorkommen (DYKE et al., 1970).

Die Assoziation von Metallionenresistenz und Penicillinasegenen unterliegt Variationen derart, daß den Plasmiden der eine oder andere Marker fehlt (NOVICK und ROTH, 1968).

Auch sind Mutationen beschrieben, bei welchen Arsenatresistenz, aber Arsenitempfindlichkeit vorlag (SILVER et al., 1981). Ferner sind Stämme nachgewiesen worden, die keine Penicillinasegene, aber plasmidische Determinanten für Metallionenresistenz besitzen (KONDO et al., 1976). Einen Überblick über Plasmide, die nur Determinanten für Metallionenresistenz besitzen, vermittelt Tabelle 7.

Tab. 7: Metallionenresistenzplasmide von Staphylokokken aureus

Plasmidbezeichnung		Phänotyp des Plasmids[1)]	Referenz
pI P	687	Cd	SHALITA et al., 1980
pI P	983	Cd	SILVER et al., 1981
pI P	9789	Cd, Asa, Asi, Hg	OSOWIECKI et al., 1981
pII	3755	Cd, Asa, Asi, Pb	" "
pII	1008	Cd, Asa, Asi, Hg, Pb	" "
pII	17810	Cd, Asa, Pb	" "

zu Tabelle 7:

1) Cd, Hg, Pb, Asa, Asi = Resistenz gegen Cadmium-,Quecksilber-, Bleiionen, Arsenat und Arsenit.

Die Lokalisation der Resistenz auf dem Bakterienchromosom ist nach NOVICK und ROTH (1978) und SILVER et al. (1981) für Cadmium und Arsenat beschrieben, wobei nach DYKE et al. (1970) die Cadmiumresistenz v.a. bei Stämmen vorkommt, die Penicillinase vom Serotyp C bilden. Die chromosomalen Marker können nach NOVICK und ROTH (1978) durch Rekombination auf Plasmide übergegangen sein. SILVER et al. (1981) fanden, daß das Arsenat-Arsenit-Antimon-Operon in Plasmiden von S. aureus durch Strukturen begrenzt wird, die die Vermutung zulassen, daß es sich hierbei um Teile eines transponierbaren Elementes handelt. Gegenwärtig gibt es aber noch keine konkreten Hinweise auf eine Transposition dieser Determinanten.
Metallionenresistenzen, die in Zusammenhang mit dem Auftreten von Plasmiden bei S. aureus noch nicht festgestellt werden konnten, sind für Gram-negative Bakterien als Eigenschaften mit extrachromosomaler Lokalisation der Gene beschrieben worden. Sie betreffen die Resistenz gegenüber Bor, Cobalt, Nickel, Silber und Tellur (GEDEK, 1981a; SILVER, 1981).
Metallionenresistenz, insbesondere gegenüber Quecksilber, Cadmium und Arsenat ist v.a. bei endemischen S. aureus-Stämmen von Krankenhäusern, oft als Mehrfachresistenz,häufig zu finden. Die Ursache für das gemeinsame Vorkommen von Antibiotika und Quecksilberresistenz ist auf die Verwendung Quecksilber-haltiger Desinfektions-

mittel in der Klinik zurückzuführen. Für das Vorkommen von Cadmiumresistenz, der am häufigsten nachweisbaren Resistenz bei Staphylokokken überhaupt, ist die Ursache vorläufig noch unklar (CHOPRA,1975; KOCH, 1981). Einen Überblick über die Häufigkeit des Vorkommens von Metallionenresistenz bei S. aureus vermittelt Tabelle 8.

Tab. 8: Vorkommen von Metallionenresistenz bei S. aureus des Menschen.

Häufigkeit von Einfach bzw. Mehrfachresistenz in %								Referenz
Cd..	Hg	Pb	As	Cd As	Cd Hg	Cd As Hg	Cd Hg As Pb	
96,1	33,9	90,3						KONDO et al. 1976
95,6	36,6	91,9	48,8		0,2	0,2	31,9	NAKAHARA et al. 1977
96,0	37,0		49,0					SILVER, 1981
				32,0		27,0		ROSDAHL und ROSENDAL, 1980
					11,6			GROVES und YOUNG, 1975
				72,9		33,4		DYKE et al. 1970

Cd,Hg,Pb,As = Resistenz gegen Cadmium, Quecksilber, Blei, Arsenat.

Isolate von Fällen sporadischer Erkrankungen erwiesen sich bezüglich Metallionenresistenz zumeist als sensibel.

Nach DYKE et al. 1970 erlaubt das Vorhandensein von Cadmium- und

Arsenatresistenz bei Staphylococcus aureus gewisse Rückschlüsse auf die Potenz der Stämme, sich im Krankenhaus auszubreiten. Stämme mit Resistenz gegenüber Quecksilber oder gegenüber Quecksilber, Cadmium und Arsenat gleichzeitig erweisen sich oft auch als mehrfachresistent gegenüber Antibiotika. Demgegenüber sind Quecksilber- sensible, aber Arsenat- und Cadmium- resistente Isolate überwiegend empfindlich gegenüber Antibiotika (DYKE et al. 1970; GROVES und YOUNG, 1975).

MOORE (1960) vertritt in diesem Zusammenhang die Auffassung, daß S. aureus auf Grund der Toleranz gegenüber kritischen Quecksilber-Konzentrationen in pathogene und apathogene Vertreter unterteilt werden kann.

Veränderungen im Metallionenresistenzmuster bei Bakterienstämmen des Menschen besitzen nach GROVES und YOUNG (1975) Modellcharakter für die Erkennung von Schwermetallkontaminationen und lassen auf Grund der Variation in den Eigenschaften Rückschlüsse bezüglich des Plasmidgehalts bei S. aureus zu (ROSDAHL und ROSENDAL, 1980).

Bei S. aureus- Stämmen vom Tier ist nach LACEY (1981) das Auftreten einer Quecksilberresistenz ein sehr seltenes Ereignis, was auf wirtsspezifische Unterschiede hinweist. Annähernd gleiche Resistenzquoten liegen vor für Cadmium und Arsenat. Bei Staphylokokken der Darmflora von landwirtschaftlichen Nutztieren ist anscheinend v.a. die Resistenz gegenüber Arsenikalien eine weit verbreitete Eigenschaft, was zumindest beim Schwein mit der therapeutischen und prophylaktischen Anwendung von Arsenikalien in unmittelbarem Zusammenhang stehen kann. Dabei gibt es Hinweise, daß die Resistenz

zugleich vergesellschaftet sein kann mit einer Resistenz gegenüber-Makroliden und verwandten Substanzen wie Lincomycin, sowie auch gegenüber Tetracyclinen, Streptomycin und Chloramphenicol (GEDEK, 1981c).

Die biochemischen Mechanismen der Resistenz gegenüber Metallionen beruhen, soweit bekannt, auf drei wesentlichen Vorgängen:

1. Transporthemmung durch die Zellwand
2. Detoxifizierung innerhalb der Bakterienzelle
3. Entfernung der eingedrungenen toxischen Substanz aus der Bakterienzelle.

Tab. 9: Resistenzmechanismen gegenüber Metallionenverbindungen.

Resistenz gegenüber	Mechanismus der Resistenz	Referenz
Quecksilberverbindungen	reduzierte Aufnahme	TYNECKA und ZYLINSKA, 1974
	enzymatische Detoxifikation unter Beteiligung von mindestens 2 Enzymen, deren Gene auf einem Operon liegen	CHOPRA, 1975; KONDO et al. 1974; SILVER, 1981
Cadmium	verminderte Aufnahme, beschleunigte Abgabe	KONDO et al.,1974; SILVER et al., 1981
	Permeabilitätsbarriere	CHOPRA, 1975
	Änderung der Spezifität des Membrantransportsystems	SILVER, 1981
Arsenat	verminderte Aufnahme, beschleunigte Exkretion durch das Transportsystem für organischen Phosphor, antagonisierbar durch Phosphationen	CHOPRA und HOWE, 1978; SILVER et al., 1981
Arsenit,Antimon	ungeklärt, keine Detoxifikation	SILVER et al., 1981
	2 Hypothesen: 1. Blockade der Akkumulation oder gesteigerte Exkretion. 2. Veränderung intrazellulärer Angriffspunkte.	SILVER, 1981

2.3. Genetische Grundlagen der Chemoresistenz bei Staphylokokken

2.3.1. Resistenzbegriff

Der Begriff Resistenz sollte nach HAHN (1976a) nur in Fällen einer erworbenen Unempfindlichkeit gegenüber einer Noxe verwendet werden, im Unterschied zur natürlichen Unempfindlichkeit, wie sie der Definition des Wirkungsspektrums eines jeden Antibiotikums oder synthetischen Chemotherapeutikums zugrunde liegt.
In erster Linie koagulasepositive, aber auch zunehmend koagulasenegative Staphylokokken können heute medizinisch als "Problemkeime" angesehen werden (KUSCH et al., 1972; KAYSER et al., 1976; JACOBY und SWARTZ, 1980), da sie sich mittlerweile vielfach gegenüber mehreren Stoffen gleichzeitig als resistent erweisen. Dies trifft in besonderem Maße auf Isolate zu, die aus Kliniken und deren näheren Umgebung stammen (Hospitalismuskeime). Derartige Keime zeigen eine ausgeprägte Resistenz gegenüber Antibiotika und synthetischen Chemotherapeutika, mitunter gekoppelt mit einer Resistenz gegenüber Metallionen wie z. B. Quecksilber und Cadmium (NOVICK und ROTH, 1968; GROVES und YOUNG, 1975; NAKAHARA et al., 1977).
Die diesem Verhalten zugrunde liegende Chemoresistenz ist bei Staphylokokken auf das Vorhandensein entsprechender, dafür verantwortlicher Gene zurückzuführen, die auf dem Chromosom, auf r-Plasmiden oder auf Translokationselementen lokalisiert sein können (OSOWIECKI et al., 1981).

2.3.2. Chromosomale Resistenz

Die genaue Größe des "Chromosoms" von Staphylokokken ist unbekannt. Die Schätzungen schwanken zwischen 5,5 x $1o^{-14}$ und 12 x 10^{-14} g/Zelle (= 2 x 10^9 - 4 x 10^9, Dalton). Es gibt Hinweise dafür, daß das sog. Chromosom bei Staphylokokken aus mehreren Teilen besteht (LACEY, 1975). Merkmalsveränderungen aufgrund von Mutationen entstehen bei Bakterien spontan und ungerichtet. Die Veränderungen in der DNS können ein oder mehrere Nukleotide betreffen. Punktmutationen können durch Austausch, Verlust oder durch zusätzliche Aufnahme eines Nukleotids entstehen. Daneben kann der Verlust ganzer DNS-Abschnitte (Deletion) vorkommen. Die Entstehung von Mutation ist auf extreme Umweltbedingungen zurückzuführen (ROLLE und MAYR, 1978). Die Häufigkeit solcher Vorgänge wird von SCHRINNER (1981) mit 10^{-9} - 10^{-11} angegeben. Für Doppelmutationen liegt die Frequenz mit 10^{-18} - 10^{-22} noch wesentlich niedriger, was zur Veranschaulichung etwa einer Mutante pro Tonne Bakterienmasse entspricht. Unter Laborbedingungen kann die Mutationsrate durch physikalische (UV-Strahlen, Gamma-Strahlen), oder durch chemische Einflüsse (alkylierende Stoffe, Akridinfarbstoffe) gesteigert werden (ROLLE und MAYR, 1978).
Fälschlicherweise wurde in der Klinik die Antibiotikaresistenz jahrelang auf solche Mutationen zurückgeführt, was aber keine Erklärung dafür bot, weshalb bei Patienten, die nur mit einem einzigen Antibiotikum behandelt wurden, auch mehrfach resistente Isolate zu finden waren (NOVICK, 1980). Die derart entstehende Resistenz, die durch Selektion erkennbar wird, richtet sich stets nur gegen Stoffe

mit identischem Wirkungsmechanismus (Parallel- oder Kreuzresistenz). Eine durch Mutation entstandene Merkmalsänderung ist nur dann von evolutionärer Bedeutung, wenn sie einen Selektionsvorteil für den Keim darstellt. Glücklicherweise trifft das für Krankheitserreger nur in den seltensten Fällen zu (SCHRINNER, 1981). Häufig führen nach ROLLE und MAYR (1978) und KOCH (1981) diese Vorgänge zu Defektmutanten, da die Resistenzentwicklung durch Mutation häufig mit Veränderungen von essentiellen Zellstrukturen (Ribosomen, Zellwand) verbunden ist. Die Mutanten sind evolutionär gesehen verkrüppelt und würden unter normalen Bedingungen bei Wegfall des Selektionsdruckes rasch aussterben, was bedeutet, daß die durch Mutation entstandenen Resistenzgene ausverdünnt werden und verloren gehen (NOVICK, 1980; SCHRINNER, 1981).

Eigentliche Bedeutung kommt also nur den selteneren Gewinnmutationen zu, so daß Merkmalsänderungen durch Mutation bei Bakterien keine große Rolle spielen (ROLLE und MAYR, 1978). Von therapeutischer Bedeutung ist dabei, daß die Selektion mutanter Populationen schneller vonstatten geht, wenn die Selektionsbedingungen das Wachstum der Elternorganismen nur teilweise hemmen (Faktor 10-100fach). Andererseits kann in solchen Fällen die Selektion therapieresistenter Keime durch die Anwendung von zwei oder mehr Antibiotika (Kombinationstherapie) mit differentem Wirkungsmechanismus weitgehend verhindert werden (KOCH, 1981).

Beispiele für chromosomale Resistenz bei Staphylokokken können der Tabelle 10 entnommen werden.

Tab. 10: Beispiele für chromosomale Resistenz bei Staphylokokken

Resistenz gegenüber	Bemerkung	Referenz
a) Antibiotika		
Streptomycin	MHK 1 µg/ml	OSOWIECKI, 1981
Penicillin G	v.a. S. simulans und S. intermedius	KLOOS et al., 1981
Tetracycline	konstitutiv, Kreuzresistenz gegenüber den klassischen Tetracyclinen und neueren Tetracyclinen, z. B. Minocyclin	OSOWIECKI, 1981
Novobiocin		OSOWIECKI et al., 1981
Bacitracin		GEDEK und LINCKH, 1981
Polymyxin B		GEDEK und LINCKH, 1981
Erythromycin		GEDEK und LINCKH, 1981
b) Metallionen		
Arsen		SILVER et al., 1981
Cadmium		SILVER et al., 1981

Hinweise für eine chromosomale Lokalisation von Resistenzgenen ergeben sich unter anderem aus der Stabilität der Eigenschaft bei Inkubationstemperaturen von 43^{o} - 44^{o}, oder aus Transduktionsexperimenten, wo es gilt, daß die Bestrahlung der transduzierenden Phagen mit geringen Dosen UV-Licht die Transduktionsfrequenz chromosomaler Gene steigert (KAYSER et al., 1976), ferner die Verbindung der fraglichen Gene mit bekannten chromosomalen Genen (LACEY, 1975).

2.3.3. Plasmid-vermittelte Resistenz

Sehr große Bedeutung bei der Merkmalsänderung kommt neben der chromosomalen Mutation dem Phänomen der Gentransmission zu (GEDEK, 1981a). In dieser Hinsicht sind Plasmide als Träger von Resistenzgenen von großer Bedeutung, obwohl es einige Zeit dauerte bis die Plasmid-vermittelte Resistenz allgemein anerkannt war (KOCH, 1981).

2.3.3.1. Definition von Plasmiden

Ein Plasmid ist nach NOVICK et al. (1976) definiert als ein Replikon (DNS-Abschnitt zwischen Ursprung und Endpunkt einer Replikation, NOVICK, 1980), das stabil und unabhängig vom Chromosom vererbt wird und sich in einem extrachromosomalen Zustand befindet. Man kann nach NOVICK (1980) Plasmide auch als Endosymbionten bezeichnen, d.h. sie sind für die Zelle von Nutzen, sind aber auch auf diese angewiesen, da sie normalerweise nicht ohne sie, also außerhalb der Zelle, existieren können. Es handelt sich hier um die vollendedste Form einer Symbiose.

2.3.3.2. Geschichte und Ursprung der Plasmide und ihrer Resistenzdeterminanten

Der Begriff "Plasmid" wurde 1952 von Joshua LEDERBERG im Zusammenhang mit der Entdeckung des Phänomens der Konjugation bei E. coli eingeführt. Resistenzplasmide wurden zuerst 1959 in Japan im Verlauf von Shigellendysenterie isoliert, nachdem bereits Jahre zuvor mehrfach Arznei-

mittel-resistente Stämme aufgefallen waren (NOVICK, 1981).
Die ersten Beschreibungen über ein Hervortreten Plasmid-tragender Stämme in Europa stammen von DATA (England) und LEBEK (Deutschland) (DIERK et al., 1976). Kurz danach wies NOVICK ähnliche Faktoren auch bei Staphylococcus aureus nach. Der Schlüssel für die Identifizierung von Plasmiden als Träger von Resistenzgenen war ihre Fähigkeit, Bakterien gleichzeitig Resistenz gegenüber Antibiotika von gänzlich unterschiedlicher Natur zu verleihen. Bestimmte Antibiotikaresistenzplasmide konnten auch in Bakterien nachgewiesen werden, die vor der Antibiotikaära isoliert worden waren (KOCH, 1981).
Die Entdeckung der Plasmide (und neuerdings einiger anderer extrachromosomaler,genetischer Elemente) hat zu einem völligen Umdenken in der Genetik geführt. Die traditionelle Meinung war, daß die genetische Ausstattung einer Art in allen Zellen gleich und über einen langen Zeitraum konstant ist. Inzwischen weiß man, daß ein beträchtlicher Teil genetischer Merkmale nicht nur bei Bakterien, sondern auch in höheren Organismen, variabel, unbeständig und übertragbar ist (NOVICK, 1980).
Über die Herkunft der Plasmide und ihrer Resistenzdeterminanten herrscht Unklarheit (PLORDE und SHERRIS, 1974). MITSUHASHI et al. (1976a) vertreten die Hypothese, daß Arzneimittelresistenzplasmide von Bakteriophagen abstammen. Die Vorstellung ist in diesem Fall die, daß ein transduzierender Phage nach Rekombination mit einem Prophagen seine Virulenz nicht aber seine Vermehrungsfähigkeit verloren hat.

Neue Resistenzmechanismen im Sinne von neuen biochemischen Strategien sind sehr selten. Relativ häufig sind dagegen kleinere Variationen gegebener Strategien. Demzufolge ist die weite Verbreitung solcher Gene innerhalb Bakterien auf einen Transfer von bereits vorhandenen und nicht auf neue Gene zurückzuführen. Aufgrund der einer Resistenz zugrunde liegenden biochemischen Prozesse, an denen z.T. ATP und Coenzym A beteiligt sind, ist anzunehmen, daß Enzymmodulationen dafür die Basis lieferten, die im Intermediärstoffwechsel von Bakterien eine allgemeine Rolle spielen (RICHMOND, 1981).

PLORDE und SHERRIS (1974) beschreiben vier Möglichkeiten der Herkunft der Resistenzdeterminanten:

1. Bestandteil des Genoms
2. Mutation bestehender Plasmide
3. Transfer extrachromosomaler Elemente anderer Genera
4. Transfer von chromosomalen Mutationen.

Mit einer dieser Möglichkeiten befaßt sich auch die sog. Bodenbakterienhypothese (CHOPRA und HOWE, 1978; NOVICK, 1980).

Dieser liegt zugrunde, daß Bakterien und Pilze, die Antibiotika produzieren, Resistenzmechanismen entwickeln müssen, um sich vor ihren eigenen Produkten zu schützen. Diese Organismen haben sich zwangsläufig auch mit im Boden enthaltenen Spuren toxischer Schwermetalle auseinander zu setzen. Dadurch könnte auch die Entwicklung von Resistenzgenen außer gegenüber Naturstoffen auch gegenüber Umweltchemikalien ausgelöst worden sein. Tatsächlich findet sich bei vielen apathogenen Bodenbakterien auch eine Resistenz gegen

Penicillin oder Tetracyclin, und die Resistenz gegen Tetracyclin konnte z. B. auf Staphylococcus aureus übertragen werden.
Dieser Theorie gegenüber stehen Untersuchungen der DNS-Homologie von verschiedenen Resistenzplasmiden, die keine Bestätigung dieser Annahme erbrachten; vor allem kann die Resistenz gegenüber synthetischen Chemotherapeutika auf diese Weise nicht erklärt werden (JACOBY und SWARTZ, 1980).

2.3.3.3. Aufbau und Nachweis von Plasmiden

Plasmide bestehen aus überspiraligen, kovalent geschlossenen, kreisförmigen Molekülen von doppelsträngiger DNS (CCC-DNS) (HARWOOD, 1980; NOVICK, 1980). Durch Änderung intramolekularer Spannungszustände wie Einzel- oder Doppelstrangbruch, was im Rahmen der Plasmidisolierung vorkommen kann, kommt es zu Konfigurationsänderungen (Abbildung 2)(CLOWES, 1972; HELINSKI, 1973; BAUER et al., 1980).
Die Basenzusammensetzung der meisten Plasmide schwankt nach CLOWES (1972) zwischen 45-55 % Guanin-Cytosin (G-C).
In der Regel verfügen Plasmid- und Chromosomen-DNS nicht über allgemeine Homologiebereiche (NOVICK, 1969).
Der Aufbau von Plasmiden unterliegt gewissen Schwankungen. Merkmale können durch Deletion verlorengehen,oder es werden Gene neu aufgenommen oder umorganisiert (LACEY, 1975; NOVICK, 1980).

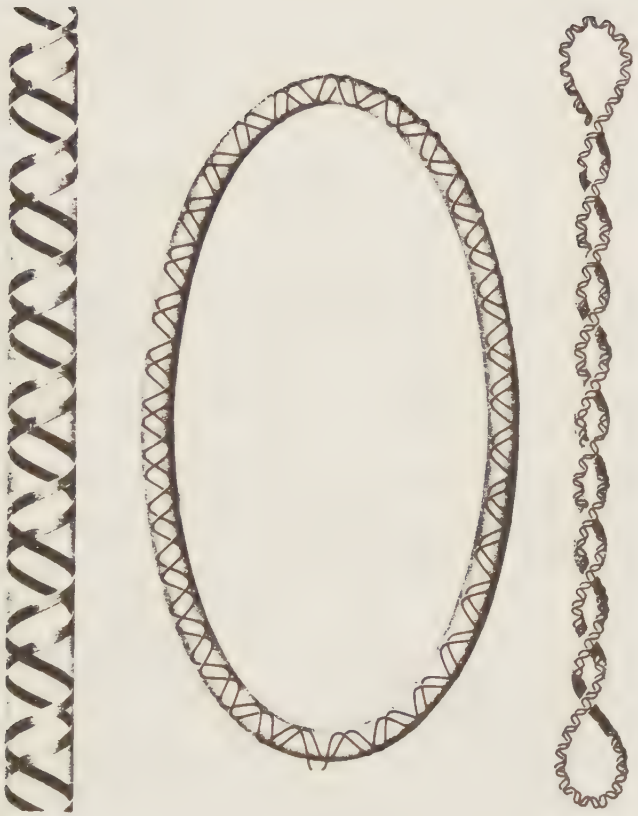


Abb. 2: Drei grundlegende Konfigurationen, in denen die DNS der Plasmide vorliegen kann (nach BAUER et al. 1980). Die schraubenförmigen Linien symbolisieren jeweils die Zucker-Phosphat- Stränge der DNS. In der Mitte: Konfiguration nach Einzelstrangbruch.

Für den Nachweis von Plasmiden (Tabelle 11) gibt es verschiedene Methoden, denen physikalische und genetische Verfahren zugrunde liegen.

Tab. 11: Gebräuchliche Nachweisverfahren für Plasmide

Nachweismethode	Referenz
Elimination einer Resistenzeigenschaft, künstlich und spontan	JACOBY und SWARTZ 1980
Ultrazentrifugation im Caesiumchlorid-Dichtegradienten mit Ethidiumbromid	CHOPRA und HOWE 1978
Transformation einer Resistenzeigenschaft durch isolierte Plasmid- DNS	MITSUHASHI et al. 1976 a
Transduktion einer Resistenzeigenschaft in Rekombination- negative (rec^-) Empfänger	MITSUHASHI et al. 1977
Agarose- Gel- Elektrophorese	ARCHER et al. 1982
Elektronenmikroskopie	MITSUHASHI et al. 1976 a
Abnahme der Transduktionsfrequenz durch Bestrahlung des transduzierenden Phagen mit hoher Dosis von UV- Licht (ARBER- Effekt)	MLYNARCZYK et al. 1981

2.3.3.4. Vermehrung, Vererbung und Inkompatibilität bei Plasmiden

Die Plasmidreplikation ist unabhängig von der Chromosomenreplikation und dem bakteriellen Zellzyklus. Der Vorgang der Vermehrung erfolgt nach zwei akzeptierten Modellen. Es handelt sich dabei um
- das CAIRNS-Modell (Replication-Fork) und
- das Modell von GILBERT-DRESSLER (Rolling-Circle-Model),
für die es jeweils verläßliche Hinweise gibt (NOVICK, 1969; JACOBY und SWARTZ, 1980).
Für die Plasmidreplikation werden Wirtszellenzyme wie die DNS-Polymerase verwendet (HARWOOD, 1980).
Da bei Staphylokokken in der Regel mehrere Plasmide gleichzeitig vorhanden sind, stellt sich die Frage, welche davon jeweils zur Vermehrung kommen. In diesem Zusammenhang werden zwei Möglichkeiten angenommen,
- geregelt: Jedes Plasmid vermehrt sich einmal pro Zellgeneration oder,
- zufällig: Vermehrung eines durch Zufall ausgewählten Plasmids aus einem intrazellulären Pool.
Vieles spricht heute für die zweite Möglichkeit (CLOWES, 1975; OEDING, 1978; HARWOOD, 1980).
Jedes Plasmid steuert autonom seine Vermehrung und die Kopienzahl. Dabei setzt der Verdoppelungsprozeß der Plasmid-DNS immer an einem essentiellen Genort, dem Replikationsursprung (Abbildung 3) ein und läuft entlang dem DNS-Faden bis zum Endpunkt weiter (NOVICK, 1980).

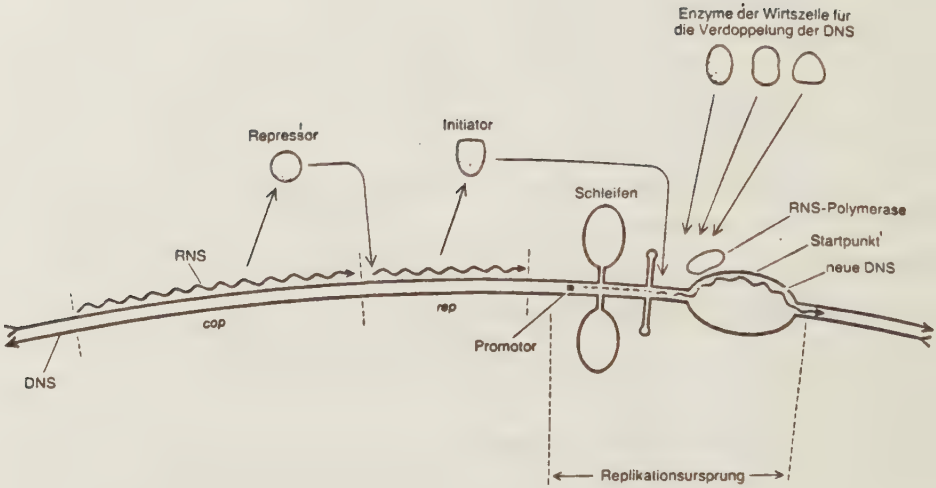


Abb. 3: Modellvorstellung der Steuerung der Plasmidvermehrung nach NOVICK, 1980).

Zeichenerklärung: rep = Replikationsgen,
cop = Gen für Repressorsubstanz

Das Plasmid ist dabei an die Innenseite der Bakterienhülle, etwa in Höhe der Äquatorialebene (Membran Attachment Site) angeheftet. Diese Stelle scheint essentiell für die Replikation und Segregation zu sein. Jedes Plasmid paßt zu einer besonderen Erhaltungsstelle, bedingt durch die mcr-Region in seinem Genom (NOVICK, 1969; HELINSKI, 1973).

Nach JACOB, BRENNER und CUZIN muß es einen Mechanismus geben, durch den sich die nicht lebensnotwendigen, genetischen Elemente bei der Zellteilung gleichmäßig auf die Tochterzellen verteilen. Nur so ist der Fortbestand dieser zahlenmäßig begrenzten Einheiten unter den Tochterzellen gewährleistet.

Inzwischen gibt es erste Hinweise auf den Verteilungsmechanismus. Danach sind mindestens zwei Komponenten beteiligt: Eine Wirksubstanz (Effektor) und eine Erkennungsstelle. Möglicherweise ist auch die Zellhülle beteiligt. Bei Fehlen einer bestimmten Stelle im Plasmid erfolgt die Vererbung nicht mehr nach einer festen Regel, sondern nach dem Zufallsprinzip (NOVICK, 1980). Insbesondere beim Fehlen von selektiven Bedingungen kann es zur Segregation von extrachromosomalem genetischen Material kommen, wobei neben den Resistenzdeterminanten auch andere Eigenschaften verloren gehen können. Dieser Spontanverlust von DNS ist auch für Staphylokokken wissenschaftlich belegt (GEDEK, 1981c).

Für verschiedene isogene Plasmide fand man, daß sie nicht stabil untereinander in einer Wirtszelle existieren können (CLOWES, 1972). Diese Erscheinung der Unverträglichkeit oder Inkompatibilität ist nach NOVICK (1981) ein Maß für die Verwandtschaft von Plasmiden. Inkompatible Plasmide sind eng, kompatible weniger eng, bzw. überhaupt nicht miteinander verwandt. Die Erscheinung der Plasmidkompatibilität ist geknüpft an das Vorhandensein eines bestimmten Genlocus, der sog. mcr-Region (Abbildung 4).

Plasmide können aufgrund ihrer Unverträglichkeit in Inkompatibilitätsgruppen (Inc) eingeteilt werden. Repräsentanten einer Gruppe besitzen eine homologe mcr-Region (NOVICK, 1969). Für S. aureus werden derzeit 13 Inkompatibilitätsgruppen benannt, wobei ein Plasmid für Gentamycinresistenz möglicherweise noch einer weiteren Gruppe zugeordnet werden kann. Resistenz gegen ein bestimmtes Antibiotikum kann dabei durch Plasmide aus verschiedenen Inkompatibilitätsgruppen vermittelt werden. Resistenzdeterminanten für die Penicillinasebildung findet man z. B. überwiegend in den Gruppen Inc 1, Inc 2 und Inc 7 (JORDANESCU und SURDEANU, 1980).

Der Plasmideinteilung in Gruppen wird epidemiologische Bedeutung beigemessen, jedoch haben neuere Arbeiten über Gentransfer ihren Aussagewert für die Plasmidklassifizierung gemindert (HARWOOD, 1980).

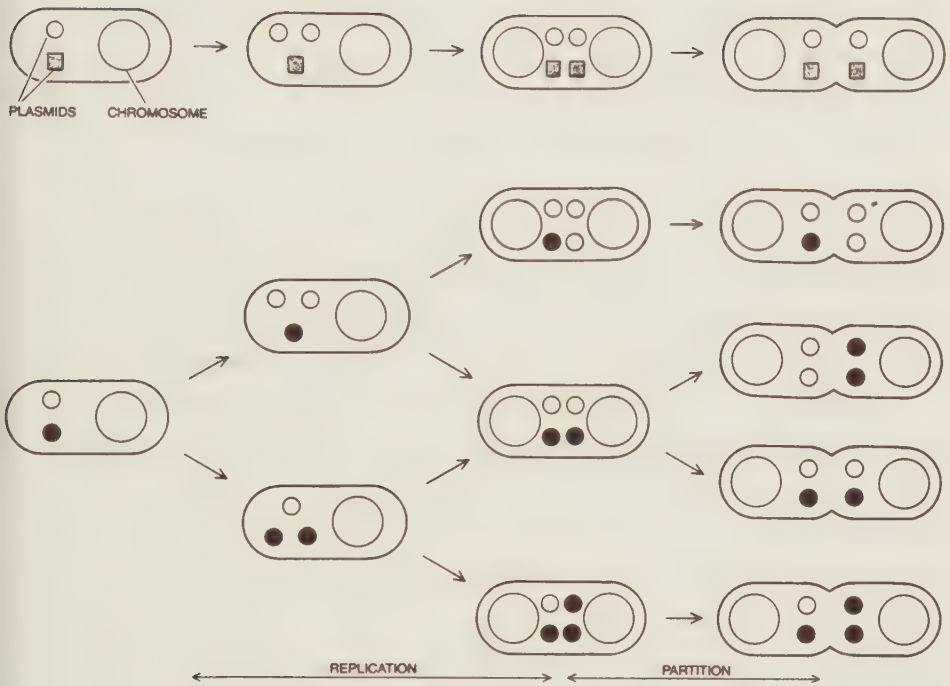


Abb. 4: Vererbung von kompatiblen und inkompatiblen Plasmiden nach NOVICK (1980).
Zeichenerklärung: a = kompatible Plasmide gehen bei der Teilung der Wirtszelle auf beide Tochterzellen über, nachdem jeweils zwei Kopien gebildet wurden.
b = bei inkompatiblen Plasmiden erfolgt die Verteilung zufällig; es entstehen auch Zellen, die nur eine Art von Plasmid enthalten.

2.3.3.5. Kopiezahl und Größe von Staphylokokkenplasmiden

Die Plasmidkopiezahl wird durch ein Element der Replikationssteuereinheit geregelt (NOVICK, 1980). Kleine Plasmide treten oft in höherer Zahl auf als größere Plasmide (HELINSKI, 1973). Insbesondere bei Staphylokokken findet man im Gegensatz zu anderen Bakterien oft hohe Kopiezahlen, wobei dann ein Plasmid oft nur eine oder einige wenige Eigenschaften codiert, wie dies für das Tetracyclin-Plasmid zutrifft. Erst das Vorhandensein von mehreren Plasmiden ergibt demzufolge eine Mehrfachresistenz. Die Kopiezahl hat Bedeutung für die Stabilität der Plasmide in der Wirtszelle, die Transduktionshäufigkeit und die Anzahl gleichzeitig vorhandener Arzneimittelresistenzen. Staphylokokken r-Plasmide sind allgemein kleiner als R-Faktoren von Gram-negativen Keimen, was auf das Fehlen der tra-Region, die für die Konjugation maßgeblich ist, zurückzuführen ist (MITSUHASHI et al., 1976a).

Plasmidkopiezahlen bei Staphylokokken schwanken abhängig vom Plasmid zwischen 2-3 (Penicillinaseplasmid) und bis 50 (Tetracyclinresistenzplasmid) (STIFFLER et al., 1974; OSOWIECKI, 1981). Für die Plasmidgröße, ausgedrückt in Megadalton, bewegen sich die Angaben zwischen 1,4 (Plasmid für konstitutive Erythromycinresistenz nach BASTOS et al.,1980) und 36,5 (Plasmid für Neomycinresistenz nach KAYSER et al., 1976).

Aus Untersuchungen von ARCHER et al. (1982) an S. epidermidis geht jedoch hervor, daß 79 % der gefundenen Plasmide kleiner als 10 Megadalton sind.

Eine ähnliche Richtung weisen Untersuchungen, die von KLOOS et al. (1981) (Tabelle 7) an den verschiedenen Staphylokokkenspezies durchgeführt wurden. Plasmide über 30 Megadalton sind demnach generell ungewöhnlich. Der Größenbereich zwischen 15-29 Megadalton kommt häufig bei S. aureus, sowie bei den Arten der S. saprophyticus- und der S. epidermidis-Gruppe, selten, oder aber überhaupt nicht, bei den Spezies S. sciuri, S. intermedius, S. hyicus und S. simulans vor. Ein Auftreten von Plasmiden kleiner als 15 Megadalton ist, bis auf die Spezies S. sciuri, bei der kaum Plasmide nachzuweisen waren, für alle Spezies üblich. Aufgrund von Genaufnahme oder -verlust unterliegt die Plasmidgröße Schwankungen (MITSUHASHI et al., 1976 b). Nach KAYSER et al. (1976) sollen v.a. große Plasmide für Staphylokokken den Nachteil haben, daß im Falle des Fehlens eines starken Selektionsdruckes oft ein Spontanverlust auftritt.

Tab. 7: Verteilung der Plasmidgröße bei Staphylokokken-Speziesgruppen nach KLOOS et al. (1981)

Plasmidgröße ($\times 10^6$ Dalton)	Staphylokokken insgesamt (342) [d]	S. sciuri (40)	S. intermedius (16)	S. hyicus (8)	S. simulans (20)	S. aureus (40)	S. epidermidis-Gruppe[a] (128)	S. saprophyticus-Gruppe[b] (90)
2	37	10	44	38	30	40	49	28
2 - 4	41	10	44	38	55	30	45	49
5 - 14	22	2	12	25	0	28	34	14
15 - 29	60	7	12	0	0	55	79	86
30 - 40	4	2	0	0	0	0	5	9
60[c]	4	2	0	0	0	0	6	6

Zahlenangaben in Prozent der Stämme, bei denen ein Plasmid des angegebenen Größenbereichs nachgewiesen wurde.

a: umfaßt die Spezies S. epidermidis, S. warneri, S. haemolyticus, S. hominis, S. capitis.

b: umfaßt die Spezies S. saprophyticus, S. cohnii, S. xylosus.

c: Identität als einheitliche Plasmid-DNA ist noch nachzuweisen.

d: In Klammern = Anzahl der untersuchten Stämme.

2.3.3.6. Vorkommen und Bedeutung von Plasmiden

Extrachromosomale Elemente können in allen Staphylokokkenspezies gefunden werden (KLOOS et al., 1981). Das Vorkommen von Plasmiden in Bakterien ist nicht konstant, und Spontansegregation ist häufig (GEDEK, 1981a). Diese damit verbundene Instabilität einer Eigenschaft gab sogar die ersten Hinweise dafür, daß sich die relevanten Gene auf Plasmiden befinden (LACEY, 1975). Gegenwärtige Beobachtungen deuten darauf hin, daß Bakterien mit Resistenzplasmiden gewöhnlich saprophytisch leben und entgegen der Erwartung nicht immer pathogen sind. Aus diesem Grunde stellt die Intestinalflora von Mensch und Tier mit ihrer Vielfalt an Bakterienspezies ein Reservoir für solche und andere Plasmide dar, was im Hinblick auf Übertragung von genetischer Information, auf für Mensch und Tier pathogene Bakterienarten als bedeutungsvoll angesehen wird. Was für Enterobacteriaceen bereits nachgewiesen wurde, trifft desgleichen für Staphylokokken zu (GEDEK, 1981c). Jedoch auch Staphylococcus aureus-Stämme aus Krankenhäusern, die einem ständigen Selektionsdruck ausgesetzt sind, beherbergen häufig Plasmide. So wurden bei 85 % der Klinikisolate Resistenzplasmide nachgewiesen (MITSUHASHI, 1980). Dabei ist für die Therapie von Bedeutung, daß sich die Mehrzahl der Resistenzgene bei S. aureus überhaupt auf Plasmiden befindet (MLYNARCZYK et al., 1981).

Plasmide sind unter den meisten Bedingungen in vivo nicht essentiell für ihre Wirte.

Sie verleihen einer Zelle aber die Potenz einer schnellen Evolution, ohne die Lebensfähigkeit, wie im Falle einer chromosomalen Mutation, zu gefährden (LACEY, 1975). Plasmide können Gene für eine Vielzahl von Eigenschaften beherbergen, nämlich außer der Resistenz gegenüber Antibiotika, synthetischen Chemotherapeutika, sowie Schwermetallen, z. B. Befähigung zu bestimmten Stoffwechselfunktionen, Bacteriocinproduktion bzw.-Unempfindlichkeit, sowie Toxinproduktion (JACOBY und SWARTZ, 1980). Von medizinischem Interesse sind vor allem die genetischen Determinanten für Resistenz gegenüber antibakteriell wirksamen Substanzen (Konjugative R- bzw. nicht-konjugative R-Plasmide, MITSUHASHI et al., 1977), die als Therapeutika eingesetzt werden, oder auch als Desinfektionsmittel Verwendung finden.

Resistenzgene auf Plasmiden wirken hochspezifisch. Sie schützen das Zielorganell in der Zelle vor dem Angriff von Antibiotika, ohne dabei andere Prozesse der Zelle nennenswert zu beeinträchtigen (NOVICK, 1980). Resistenz aufgrund übertragbarer Plasmide gewährt den Mikroorganismen den entscheidenden Vorteil in der Anpassungsfähigkeit an veränderte Milieubedingungen auf folgende Weise:

1. Resistenz gegen mehrere Antibiotika kann durch ein einzelnes Plasmid bedingt sein.
2. Antibiotikaresistenzgene können bei Bedarf vermehrt, bzw. bei Nichtbedarf vermindert werden.
3. Plasmide können in einem minimalen Teil einer Population verweilen und dadurch nach Segregation bei Bedarf wieder von den Zellen zurückerlangt werden.

4. Plasmide können als Vektoren für Gentransfer dienen.
5. Plasmide spielen eine evolutionäre Rolle in der Neuordnung von genetischem Material zwischen und innerhalb von Organismen.

Die Plasmid-vermittelte Resistenz hat allerdings den Nachteil für das Bakterium, daß sie nicht ohne weiteres dazu dienen kann, das Angriffsziel eines Antibiotikums zu verändern, da Strukturgene für wichtige Zellproteine sich fast immer auf Chromosomen befinden (KOCH, 1981). Außer den Plasmiden mit hochspezifischer Wirkung existieren noch sog. cryptische Plasmide, denen zur Zeit keine spezielle Funktion zugeordnet werden kann (JACOBY und SWARTZ, 1980; BIRGE, 1981).

Bezüglich der Bedeutung von Plasmiden für die Virulenz von Staphylokokken bestehen unterschiedliche Anschauungen, was darauf zurückzuführen ist, daß die krankmachende Wirkung eines Erregers nicht in irgendeiner Form quantifizierbar ist (LACEY, 1975). Nach LACEY (1981) macht Plasmidträgertum eine Zelle diese eher avirulent als virulent, denn die Maschinerie, die die Zelle in Gang zu setzen hat, um Plasmide zu erhalten und zu vermehren, gefährdet die anderen Funktionen der Zelle. Antibiotikaresistente Mikroorganismen sollen nach Ergebnissen von Tierversuchen auch vermindertes Wachstum zeigen. Demgegenüber fand CUTTLER (1981) Hinweise dafür, daß mehrfach-resistente Staphylokokken virulenter sind als einfach-resistente oder sensible Vertreter. Nach DIERK et al. (1976) sollen sich Darmkeime mit Resistenzfaktoren in größerem Umfang vermehren.

2.3.3.7. Ausbreitung Plasmid-gebundener Resistenz bei Staphylokokken

Neben der vertikalen Übertragung auf Tochterzellen ist die horizontale Weitergabe von genetischen Determinanten der Plasmide bei Staphylokokken von entscheidender Bedeutung (DIERK et al., 1976). Für die Übertragung von Plasmiden sind zur Zeit verschiedene mehr oder weniger effektive Möglichkeiten bekannt. Der Transformation von isolierter Plasmid-DNS wird wenig Bedeutung beigemessen, da sie häufig eingeschränkt ist durch DNS-abbauende Enzyme (LEVINTHAL, 1974). Der natürliche Übertragungsweg ist nach WITTE (1981) die Transduktion durch Bakteriophagen, die bei S. aureus erstmals 1958 durch RITZ und BALDWIN in Zusammenhang mit der Transmission von Genen, die für Penicillinasebildung codieren, beschrieben worden ist (ASHESHOW und PORTHOUSE, 1976). Diese Art der Genübertragung scheint bei Staphylokokken der wesentlichste Vorgang für den Erwerb zusätzlicher Resistenzmerkmale durch epidemisch vorkommende Stämme zu sein (PLORDE und SHERRIS, 1974). Die Infektion einer Bakterienzelle mit Phagen gilt insbesondere bei Staphylokokken als speziesspezifisch, so daß die Übertragung auf das Wirtsspektrum des jeweiligen Bakteriophagen-Vektors, ausgedrückt im Phagentyp eines Stammes, beschränkt ist (LACEY, 1976; HARWOOD, 1980). Der Klassifizierung von Staphylokokken nach Zugehörigkeit zu einer bestimmten Phagengruppe kommt epidemiologische Bedeutung zu (LACEY, 1975). Im speziellen wird zwischen generalisierter und spezifischer Transduktion differenziert. Die Übertragunsfrequenz hängt dabei von der

Spender-, der Empfängerzelle und dem Plasmid ab (LACEY und RICHMOND, 1974). Hohe Transduktionsfrequenzen beobachtet man nach LACEY (1981) vor allem dann, wenn Spender- und Empfängerzelle zufällig passende Prophagen beherbergen. In anderen Fällen sollen Phagen die Resistenzübertragung ähnlich wie bei Enterobacteriaceen eher behindern als fördern.

Das größte Plasmid, das nach LACEY und RICHMOND (1974) durch Transduktion mit sehr geringer Frequenz übertragen wurde, hatte ein Molekulargewicht von 35 x 10^6 Dalton. Höhere Frequenzen erzielt man in Mischkulturen (Tetracyclinplasmid: 10^{-1}, Chloramphenicol-/Penicillinaseplasmid: 10^{-6})(LACEY und RICHMOND, 1974; LACEY, 1975). Der Vorgang der Konjugation wie bei Gramnegativen Bakterien wurde bei Staphylokokken noch nicht beobachtet (NOVICK und ROTH, 1968). In Mischkulturen fand man jedoch Anzeichen für einen Plasmidtransfer, ähnlich der Konjugation durch Zell-zu-Zell-Kontakt. Dem liegt wahrscheinlich eine Membranfusion zugrunde, in deren Verlauf vermutlich mehrere Plasmide ins Plasma eines anderen Wirtes übertreten (WITTE, 1981). Auch LACEY (1975) erwähnt eine "Brückenbildung" zwischen Spender und Empfängerzelle, vergleichbar mit dem Prozeß der Konjugation bei Enterobacteriaceen.

Resistenzeigenschaften gehen nach LACEY (1981), wenn überhaupt, selten von tierischen Stämmen auf Staphylokokken des Menschen über. Als Gründe für einen solchen Sachverhalt sind anzuführen:

1. Die Natur der Resistenz ist unterschiedlich (z. B. betreffend die Makrolid- oder Metallionenresistenz)
2. Bei in vitro-Tests sind die Resistenzdeterminanten nur ausnahmsweise übertragbar.

3. Tierische Stämme überleben milieubedingt kaum auf menschlichen Wirten.
4. Auf lange Sicht reduzieren andere Faktoren die Zahl der Resistenzdeterminanten, die die Zelle durch den Gentransfer hinzugewonnen hat.

2.3.3.8. Plasmidelimination bei Staphylokokken

Die Beeinflußbarkeit der Resistenzdeterminanten von Mikroorganismen wird seit den 60- iger Jahren eingehender untersucht (ZUEVA et al. 1980). Plasmide erweisen sich schon unter natürlichen Bedingungen als mehr oder weniger instabil, was in Spontanverlusten zum Ausdruck kommt. Die Verlustraten können durch verschiedenartige chemische oder physikalische Behandlungen einer Bakterienkultur (Tabelle 8) gesteigert werden (CLOWES, 1972).
Curingstoffe wirken nach NOVICK 1969, JACOBY und SWARTZ 1980 fast immer gleichzeitig bakteriozid und mutagen.
Der Vorgang der Plasmidelimination ist nach HAHN (1976b) das Ergebnis einer progressiven Verdünnung Plasmid- positiver Zellen durch ihre Plasmid- negativen Nachkommen, begründet in einer Blockade der Plasmidvermehrung. Besonders im Falle eines gekoppelten Verlustes von mehreren Eigenschaften ergeben sich stichhaltige Hinweise auf eine Plasmidlokalisation der entsprechenden Gene, z.B. gegenüber antibakteriellen Substanzen (RUBIN und ROSENBLUM, 1971; SCHINDLER, 1972) und zwar besonders deutlich, wenn der Verlust einer phänotypischen Eigenschaft mit hoher Frequenz auftritt.

Tab.8: Beispiele für die Plasmid-eliminierende Wirkung bestimmter Faktoren.

Faktoren	Referenz
1. Kulturbedingungen:	
- Wiederholte Subkultur	VOGEL et al. 1978
- Langzeitaufbewahrung (2 Wochen bei 21°C)	KAYSER et al. 1972 LACEY und RICHMOND 1974
- Inkubation bei 42- 43°C	VOGEL et al. 1978 ROSENDORF und KAYSER 1974
2. Energiereiche Strahlung:	
- UV-Bestrahlung	ROSENDORF und KAYSER 1974
3. Antibiotika:	
- Novobiocin	McHUGH und SWARTZ 1977
- Rifampicin	BAN et al. 1976
- Cloxacillin	LACEY und RICHMOND 1974
4. Chemisch Verbindungen:	
- Akridinfarbstoffe	BOUCHANAUD et al. 1969 MITSUHASHI et al. 1963
- Dimethylsulfoxid (DMSO)	SZYDLOWSKA 1977
- Anthelmintika(Tetramizole, Oxyclozanide)	HAHN 1976 b
- Detergentien(Natriumdodecylsulfat SDS)	BAN et al.1976; HAHN 1976 b
- Quinoxalin- Di- N- Oxide(Carbadox)	GEDEK 1981 a

Andererseits ist aber ein fehlender Nachweis für die Instabilität einer Eigenschaft kein zwingender Beweis gegen eine Plasmidlokalisation. Die Tetracyclinresistenz beispielsweise kann bei S. aureus eine sehr stabile Eigenschaft sein, wenn sie Plasmid-codiert ist (LACEY, 1975).

Plasmidelimination ist stark abhängig vom jeweiligen Plasmid, vom Bakterienstamm und von den sog. Curing-Bedingungen (JACOBY und SWARTZ, 1980). So konnten unter gleichen Versuchsbedingungen bei S. aureus Eliminationshäufigkeiten zwischen 1 und 100% nachgewiesen werden (SONSTEIN und BALDWIN, 1972). Bei anderen Untersuchern war die Spannbreite der Verlustraten geringer (MITSUHASHI et al., 1963; ROSENDORF und KAYSER, 1974; HAHN, 1976b; KAYSER et al., 1976). Die Beurteilung eines Curingeffektes erweist sich bisweilen als schwierig, da v.a. in Fällen hoher Eliminationsraten, bei Vorliegen einer gewissen Instabilität des Merkmals, eine Segregation von Plasmiden auch auf das Konto von Spontanverlusten gehen kann (NOVICK, 1969; KAYSER et al., 1974). Außerdem erhalten unter Umständen entstandene, Plasmid-negative Zellen des gleichen Stammes einen Wachstumsvorteil gegenüber Plasmid-tragenden Zellen, oder der Curingstoff erweist sich als Selektor (NOVICK, 1969; CHOPRA, 1976; KAYSER et al., 1976). Die jeweilige Plasmidkopiezahl und -größe ist nach NOVICK et al., (1980) nicht verantwortlich für ein unterschiedliches Verhalten gegenüber Eliminierungsversuchen, da bei großen Plasmiden, die z.B. 2/3 des Genoms verloren haben, die Verlustrate nicht ansteigt.

Von Einfluß könnte aber die Zellwand sein, da sie direkten Anteil am Teilungsprozeß von eliminierbaren Plasmiden hat.

Möglicherweise werden nicht eliminierbare Plasmide obligatorisch in Assoziation mit dem Bakterienchromosom geteilt.
Nach LACEY (1975) scheint es keine Substanz zu geben, die bei S. aureus alle Plasmide zu eliminieren in der Lage ist. Zum anderen ist es nach LACEY und RICHMOND (1974) fraglich, ob hierbei die sog. klassischen Curingstoffe überhaupt wirksam sind.
Der genaue Wirkungsmechanismus der Plasmidelimination ist im einzelnen unbekannt (JACOBY und SWARTZ, 1980). Aus den Eigenschaften einiger dieser Substanzen ergeben sich jedoch gewisse Hinweise.
Viele Curingstoffe, z.B. das Akridinorange aus der Gruppe der Akridinfarbstoffe, gelten als interkalierende Substanzen, die sich, z.T. spezifisch, zwischen zwei benachbarte Basenpaare schieben. Möglicherweise erfolgt dabei selektiv eine Bindung an Plasmid-DNS, wodurch das Erreichen des überspiraligen Status und damit auch die Stabilität und Vermehrung des Plasmids beeinträchtigt wird (KAYSER et al., 1976; Mc HUGH et al, 1977; JACOBY und SWARTZ, 1980). Diese Theorie erhält eine Stütze durch die Feststellung, daß die Plasmid- eliminierenden Eigenschaften von Novobiocin auf der Wirkung des Antibiotikums als ein Hemmstoff der DNS-Gyrase beruhen, einem Enzym, das für die Bildung von überspiraliger DNS verantwortlich ist (NOVICK, 1969; McHUGH et al., 1977).
Aufgrund der Plasmideliminierenden Wirkung gewisser Substanzen sehen JACOBY und SWARTZ (1980) eine eventuelle Zukunftsperspektive in der Kombination von Antibiotika mit Curingstoffen. Wegen von Stamm zu Stamm variierenden Curingeffekten jedoch, wird nach LACEY (1975) vermutlich trotzdem nicht immer ein Therapieerfolg zu verzeichnen sein.

2.3.4. Transponierbare genetische Elemente

Im Jahre 1974 machten JACOB und HEDGES eine wichtige Beobachtung für die Interpretation des Phänomens der Mehrfachresistenz. Sie berichteten, daß beim Übergang eines Resistenzgenes von einem Plasmid in ein anderes die Größe des Empfängerplasmids zunimmt. Sie vermuteten, daß sich Resistenzeigenschaften in diesem Fall auf bis dahin ungewöhnlichen genetischen Elementen befanden, die in der Lage waren, innerhalb der Zelle von einem Genort zu einem anderen zu wechseln. Solche Gene, Transposonen genannt, benötigen für ihren Positionswechsel weder die Enzymausstattung noch die passende Anordnung der DNS- Bausteine, wie sie für homologe Austauschvorgänge erforderlich sind. Der Vorgang wird daher auch als illegitime Rekombination bezeichnet (COHEN und SHAPIRO 1980; KHAN und NOVICK 1980; NOVICK 1980). Teile der Erbsubstanz, die die normalen Regeln der Rekombination durchbrechen und ihre Position in vielfältiger Weise ändern können, bezeichnet man allgemein als transponierbare genetische Elemente. Zu ihnen zählen neben den Transposonen (Tn) auch die Insertionssequenzen (IS) und die Episomen (z.B. F- Faktor bei E. coli).
IS- Elemente tragen nur Gene für ihre Insertion und codieren für kein weiteres, bekanntes Merkmal. Demgegenüber befinden sich auf Transposonen gewöhnlich auch andere bekannte Determinanten. Sie verhalten sich zwar formal wie Insertionselemente, sind aber komplexer aufgebaut und mit 2500- 25000 Basenpaaren auch größer als diese (COHEN 1976; COHEN und SHAPIRO 1980; HARWOOD, 1980; KROLEWSKI et al., 1981).

Ein Transposon wie z.B. Tn3 ist aus mindestens 4 funktionellen Einheiten aufgebaut (Abbildung 5). Es wird durch gegenläufig komplementäre Enden begrenzt, worüber elektronenmikroskopische Aufnahmen von DNS- Einzelsträngen bzw. von Hybrid-DNS in der Ausbildung von sog. Haarnadelstrukturen (Palindrome) Aufschluß erteilen. Diese Formation tritt auch bei den IS- Elementen auf. Das Transposasegen codiert für das Enzym Transposase, das für den Übertragungsvorgang verantwortlich ist (SENGBUSCH, 1979; COHEN und SHAPIRO, 1980).

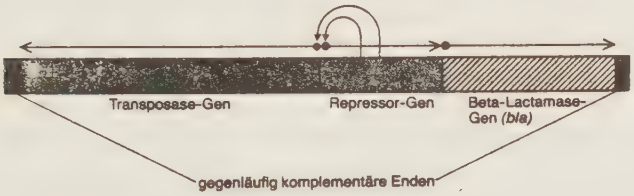


Abb. 5: Schematische Darstellung der 4 Untereinheiten des Transposon Tn3 nach COHEN und SHAPIRO (1980).

Für mindestens zwei Transposonen konnte nachgewiesen werden, daß ihre Enden jeweils aus dem IS- Element 1 bestehen, das seinerseits zwei gegenläufig komplementäre Enden besitzt(COHEN und SHAPIRO 1980). Transposonen verfügen über ähnliche Transpositionseigenschaften wie IS- Elemente, sind aber auf Grund ihrer phänotypischen Eigenschaften leichter nachzuweisen als diese (HARWOOD 1980).
Transposonen können Determinanten für Resistenz gegenüber verschiedenen Antibiotika, synthetischen Chemotherapeutika und Quecksilber tragen, ferner genetische Informationen für die Fähigkeit zur Toxinbildung und verschiedene biochemische Abbauvorgänge aufweisen (Tabelle 9).

Tab. 9: Beispiele für Transposonen definierter Chemoresistenz nach JACOBY und SWARTZ (1980).

Transposon	Arzneimittelresistenz	Größe ($x10^6$)
Tn1	Ampicillin	3,2
Tn4	Ampicillin,Streptomycin,Sulfonamid	13,6
Tn5	Kanamycin	3,5
Tn7	Streptomycin,Trimethoprim	8,5
Tn9	Chloramphenicol	1,7
Tn10	Tetracyclin	6,2
Tn551	Erythromycin,Lincomycin	3,5
Tn1696	Chloramphenicol,Gentamicin,Streptomycin,Sulfonamid,Quecksilberchlorid	9,1

Im Gegensatz zu E. coli sind für S. aureus erst wenige Determinanten auf transponierbaren genetischen Elementen bekannt. Als gesichert gilt eine solche Lokalisation für konstitutive Erythromycin- und Spektinomycinresistenz. Vermutet wird sie für Quecksilber-, Arsenat- und Methicillinresistenz, sowie für Gene zur Bildung von ß- Lactamase (KHAN und NOVICK 1980; NOVICK 1980; OSOWIECKI et al. 1981; SILVER et al. 1981).

Elektronenmikroskopische Untersuchungen von S. aureus- Plasmiden lieferten Hinweise für transponierbare genetische Elemente (DAVIS et al. 1977).

Das Transpositionsereignis ist im Gegensatz zur homologen Rekombination unidirektional; die Insertion eines Elementes an einer Stelle und seine Exzision aus einer gegebenen Stelle sind in der Häufigkeit verschieden.Die Ursachen dafür sind ebenso wie die genauen Mechanismen der Transposition unbekannt (DAVIS et al 1977; HARWOOD 1980), ferner

fehlen Hinweise für eine autonome Existenz von Transposonen (BUKHARI et al., 1977).

Transposition liegt vor bei Integration von R- oder r- Plasmiden in das Bakterienchromosom und bei Aufnahmen der genetischen Elemente durch Bakteriophagen oder andere Plasmide (MITSUHASHI et al., 1977; JACOBY und SWARTZ, 1980).

Den IS-Elementen kommt in Bezug auf die Resistenz gegenüber antibakteriellen Stoffen weit größere Bedeutung zu, da sie die Expression von nahegelegenen Genen aufgrund ihrer Insertion oder Exzision unterbinden oder anregen können (Abbildung 6) (COHEN, 1976).

HARWOOD (1980) spricht in diesem Zusammenhang von streng gerichteten Mutationen durch IS-Elemente.

Bis jetzt sind wenigstens 5 verschiedene IS-Elemente näher charakterisiert worden (HARWOOD, 1980).

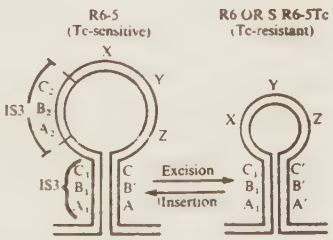


Abb. 6: Einfluß von Insertionssequenzen auf die Expression von nahegelegenen Resistenzgenen nach COHEN (1976). Insertion von IS 3 'schaltet' die Expression des Tetracyclinresistenzgenes ab (linker Teil der Abbildung), Exzision bedingt Wiederherstellung der Resistenz.

Die Entdeckung , daß bestimmte Plasmid-gebundene Gene Teile von transponierbaren genetischen Elementen sind, lieferte die Erklärung

dafür, daß Plasmide auch Gene aus nichthomologer DNS aufnehmen können (DAVIS et al. 1977) und erklärt das Auftreten von Plasmiden, die für eine mehrfache Chemoresistenz codieren (MITSUHASHI et al. 197
Durch Einlagerung von Transposonen können sich Antibiotikaresistenzgene auf Plasmiden ansammeln. Es liegen Hinweise vor darauf, daß sich ein Plasmidabschnitt mit Resistenzdeterminanten aus mehreren Transposonen zusammensetzt, von denen jedes ein Gen enthält, das Resistenz gegen ein oder mehrere Antibiotika bewirkt (COHEN und SHAPIRO 1980).
Bakterien, die normalerweise Gene untereinander austauschen, haben gewöhnlich auch die gleichen Transposonen. Transponierbare genetische Elemente mit Genen für Antibiotikaresistenz können aber auch auf Bakterienarten übertragen werden, von denen man bisher nicht annahm,da sie Gene austauschen. Offenbar sind mit Hilfe von Transposonen genetische Manipulationen vergleichbar der Genchirurgie möglich (COHEN und SHAPIRO 1980).
Die Einteilung der Resistenzen nach ihrer Lokalisation gerät unter anderem aufgrund der Eigenschaften von transponierbaren Elementen in neuerer Zeit ins Schwanken. Es können einerseits genetisch stumm erscheinende Plasmide plötzlich Resistenzgene aufnehmen, oder andererseits auch Gene aus dem Chromosom ausgeschleust werden (SCHRINNER 1981).

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

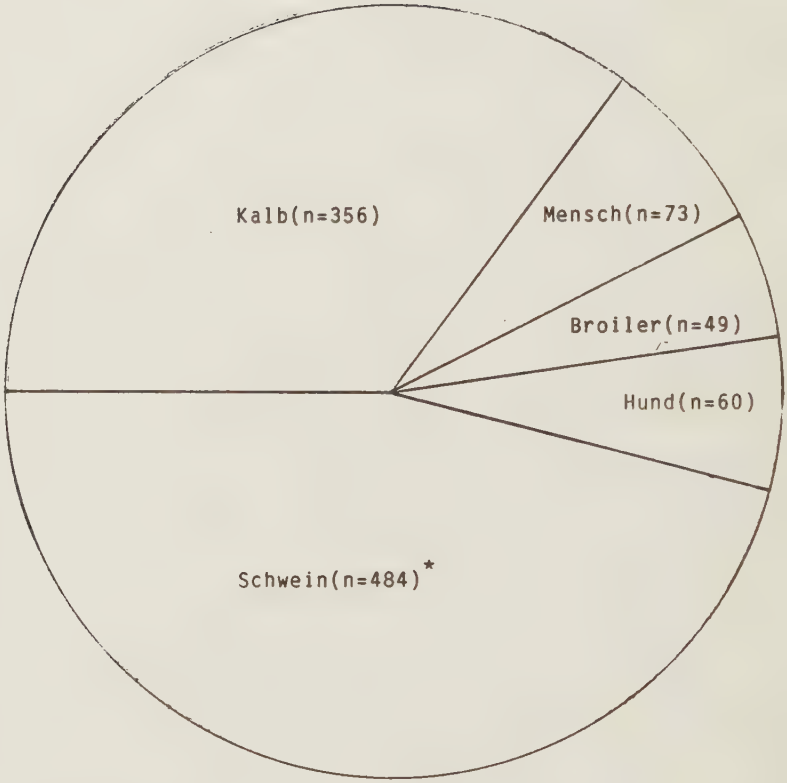
3.1 MATERIAL UND METHODEN

3.1.1. Herkunft der Stämme

Es wurden insgesamt 1022 Isolate von Staphylokokken unterschiedlicher Artzugehörigkeit auf ihre Ansprechbarkeit gegenüber Antibiotika und gegenüber Verbindungen verschiedener Metallionen untersucht.
Die Mehrzahl der geprüften Staphylokokken wurde zu diesem Zweck aus Untersuchungsmaterial von Kalb und Ferkel frisch isoliert und in ihrem Verhalten mit Stämmen der Sammlung des Institutes für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Universität München verglichen, wobei es sich um Isolate aus Untersuchungsmaterial der letzten zwei bis fünf Jahre vom Schwein, Broiler, Hund und des Menschen handelte. In Abbildung 7 ist die Herkunft der Isolate mehr aufgeschlüsselt. 21 Isolate wurden zur Prüfung der Plasmid- eliminierenden Wirkung ausgewählter Stoffe herangezogen.

3.1.2. Medien

Zur selektiven Züchtung der Staphylokokken aus Untersuchungsmaterial der verschiedenen Tierarten wurde Staphylokokkenanreicherungsbouillon (Merck, Nr. 7892) und Mannit- Kochsalz- Phenolrot- Agar (Merck, Nr. 5404) verwendet. Bei der Anzucht von Staphylokokken aus Nasen- Rachen- und Analbereich von Kalb und Ferkel mit Zusatz von Metallionen als zusätzliche Selektoren fand das gleiche Nährsubstrat zur Gewinnung von Einzelkolonien Verwendung.



* = davon 35 Isolate aus der Stammsammlung des Instituts.

Abb. 7: Herkunft der Stämme und ihr Anteil an der Gesamtzahl geprüfter Isolate (n=1022).

Über Art und Höhe der dazu ausgewählten Metallionen- Verbindungen gibt Tabelle 10 Aufschluß.

Tab. 10: Zusätze für die selektive Anzucht Metallionen- resistenter Staphylokokken auf Mannit- Kochsalz- Phenolrot- Agar (Merck, Nr. 5404).

Verbindung	Lösungsmittel	Hersteller	Konzentration im Nährboden
Arsentrioxid	Aqua dest.	Merck,Nr.119	200 µg/ml As^{3+}
Bleinitrat	" "	" ,Nr.7396	1060 µg/ml Pb^{2+}
Cadmiumchlorid	" "	" ,Nr.2011	5,6 µg/ml Cd^{2+}
Quecksilberchlorid	" "	" ,Nr.4419	73,8 µg/ml Hg^{2+}
Zinksulfat	" "	" ,Nr.8883	100 µg/ml Zn^{2+}

Als Testmedium für die Resistenzprüfung diente Isosensitest- Agar (Oxoid, CM471). Die Vorkultur erfolgte in Standard- I- Boullion (Merck,Nr.7882).
Während zur Testung der Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika vorgefertigten Testblättchen der Firma Oxoid Deutschland, Wesel/ Rhl., der Firma Becton- Dickinson, Heidelberg und des Institut Pasteur, Paris,der Vorzug gegeben wurde, erhielt das Medium zur Testung des Verhaltens gegenüber Metallionen die Verbindungen, z.T in abgestuften Konzentrationen, zugesetzt. Die Endkonzentrationen, die dabei von den geprüften Metallionen im Agar vorlagen, sind in Tabelle 11 angeführt.

Tab. 11: Konzentrationen der zur Testung der Staphylokokken auf Metallionenresistenz Isosensitest-Agar(Oxoid, CM 471) zugesetzten Salze.

Verbindung	Hersteller	Konzentrationen im Nährboden	
Arsentrioxid	Merck, Nr.119	200	µg/ml As^{3+}
Bleinitrat	" , Nr.7396	130/1060	µg/ml Pb^{2+}
Cadmiumchlorid	" , Nr.2011	5,6	µg/ml Cd^{2+}
Dinatriumhydrogenarsenat	" , Nr.6284	161,2	µg/ml As^{5+}
Kupfersulfat	Riedel-de Haen AG Nr.30595	180/200	µg/ml Cu^{2+}
Quecksilberchlorid	Merck, Nr.4419	73,8	µg/ml Hg^{2+}
Zinksulfat	" , Nr.8883	25/50/100	µg/ml Zn^{2+}

Über die Zusätze, die der Standard I-Bouillon (Merck Nr.7882) für das "Curing" und dem Isosensitest-Agar für die anschließende Überprüfung beibehaltener, bzw. verlorengegangener Resistenzeigenschaften zugesetzt wurden, geben Tabellen 12 und 13 Auskunft.

Als dazwischen geschalteter Reinigungsagar fand Fleischextrakt-Pepton-Agar (Oxoid CM 55) Verwendung.

Der vorübergehenden Aufbewahrung der Isolate diente der Staphylokokken-Konservierungsagar nach GEDEK (1972).

Tab. 12: Konzentrationen der ausgewählten "Curingstoffe" in der Standard-I-Bouillon (Merck, Nr. 7882).

Substanz	Hersteller	Konzentration in der Buillon	
Aflatoxin B_1	SERVA,Nr.77020	1/ 5/ 10	µg/ml
Akridinorange	Merck,Nr.1333	12, 5	µg/ml
Carbadox	Pfizer, Nr.WE 6065	5	µg/ml
Dimethysulfoxid (DMSO)	Merck,Nr.2931	1	%
Natriumdodecylsulfat (SDS)	SERVA,Nr.20760	0,002	%
Novobiocin	SERVA,Nr.30995	25	µg/ml

Tab. 13: Zusätze zur Überprüfung plasmideliminierender Eigenschaften der ausgewählten "Curingstoffe" zum Testmedium Isosensitest-Agar (Oxoid, CM 471).

Zusatz	Hersteller	Konzentration im Nährboden	
Penicillin G	Hoechst AG	6	IE/ml
Chloramphenicol	Roth OHG Nr.2-6295	20	µg/ml
Erythromycin	SIGMA Nr.E-6376	50	µg/ml
Streptomycin	Grünenthal Nr. 703732	15	µg/ml
Kanamycin	SERVA Nr.26889	20	µg/ml
Tetracyclin-HCL	SERVA Nr.35865	50	µg/ml
Dinatriumhydrogenarsenat	Merck,Nr.6284	161,2	µg/ml As^{5+}
Cadmiumchlorid	Merck,Nr.2011	5,6	µg/ml Cd^{2+}
Quecksilberchlorid	Merck,Nr.4419	73,8	µg/ml Hg^{2+}
Blei-II-nitrat	Merck,Nr.7396	1060	µg/ml Pb^{2+}

3.1.3. Methoden

3.1.3.1. Selektive Züchtung, Isolierung und Konservierung der Staphylokokken

Da Staphylokokken innerhalb der physiologischen Haut- und Schleimhautflora von Mensch und Tier gegenüber anderen Keimarten unterrepräsentiert sind, wurde als erstes eine Anreicherung der Keime in flüssigem Medium vorgenommen. Unmittelbar vor Gebrauch des Staphylokokken-Anreicherungsmediums (Merck, Nr. 7892) wurde der Selektiv-Bouillon 20 ml/l einer 1%-igen Kaliumtellurit-Lösung (Merck, Nr. 5164) beigefügt und nach Zugabe von Untersuchungsmaterial eine Bebrütung über 2 Tage bei 37° C vorgenommen. Nach dieser Zeit wurde dann mit einer Öse den Bouillon-Röhrchen jeweils Material entnommen und dieses unter Anwendung des sog. Dreiösenausstrichs auf der Oberfläche des Mannit-Kochsalz-Phenolrotagar derart verteilt, so daß bei weiterer Bebrütung von 2 Tagen bei 37° C von den Staphylokokken auf dem festen Substrat Einzelkolonien zu erwarten waren. Von jeder der bewachsenen Platten mit und ohne Zusatz von Metallionen als Selektor wurden Keime isoliert, die aufgrund der Fähigkeit zur aeroben Mannitverwertung und der Bildung von Pigment als Staphylokokken anzusprechen waren. Sie wurden nach einer Passage über Malzextrakt-Pepton-Agar (Oxoid-Nr. CM 55) entweder sofort weiter untersucht, oder zunächst auf Konservierungsagar (GEDEK, 1972) bis zur Durchführung der Sensibilitätsprüfungen gegenüber Antibiotika, resp. Metallionen, bei +4° C aufbewahrt. Von jeder Platte eines Ansatzes wurde jeweils nur eine Kolonie für die Untersuchung auf Antibiotika-Resistenz isoliert.

3.1.3.2. Empfindlichkeitsprüfung gegenüber Antibiotika

Hierzu wurde das Plattendiffusionsverfahren herangezogen. Es erfolgte zunächst eine Überimpfung der Keime in Standard-I-Bouillon (Merck, Nr. 7882). Nach 18stündiger Bebrütung wurde diese im Verhältnis 1:1 mit steriler, physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und davon eine Öse (= 20 µl) verdünnter Bouillonkultur auf dem Sensibilitätsmedium ausgespatelt. Anschließend wurden mittels Dispensoren Testblättchen der zu prüfenden Antibiotika (siehe Tabelle 14) aufgebracht. Nach dem Stehenlassen der Testplatten bei Zimmertemperatur von etwa 1 Stunde, um den Antibiotika Zeit für eine Diffusion zu geben, wurden sie 18 Stunden bei 37° C bebrütet und dann ausgewertet. Dazu wurden jeweils die Hemmhofdurchmesser ermittelt und nach den hierüber von DIN und NCCLS vorliegenden Bewertungsgrenzen die jeweilige Ansprechbarkeit von Staphylokokken mit " empfindlich", "mäßig empfindlich" und "resistent" interpretiert (Tabelle 14). Bei der Auswahl der getesteten Antibiotika fand Berücksichtigung, gegenüber welchen sich Staphylokokken von Tieren und des Menschen in den letzten 10 Jahren als resistent, bzw. empfindlich, erwiesen haben (DEVRIESE, 1976; ALLEN, 1977; PAUL-EHRLICH-Gesellschaft, 1978, 1980, 1982; DEVRIESE, 1980; BRUN et al., 1981; GEDEK und LINCKH, 1981, u.a.m.)

Tab. 14: Interpretation der Hemmhofdurchmesser unter Zugrundelegung der Bewertungsgrenzen nach NCCLS* und DIN**

Antibiotikum	Hersteller	Beladung IE bzw. µg/disc	Hemmzonendurchmesser in mm		
			resistent ≤	mäßig empfindlich ≥ – ≤	empfindlich ≥
ß-Lactam Antibiotika:					
Penicillin G	Oxoid	6	20	21 - 28	29
Ampicillin	Oxoid/Pasteur	10	10	11 - 27	28
Oxacillin	Oxoid	5	21	-	22
Cephalotin	Oxoid	30	17	18 - 19	20
Aminoglycoside:					
Streptomycin	Oxoid	10	14	15 - 16	17
Kanamycin	Oxoid/Pasteur	30	16	17 - 22	23
Spectinomycin	Becton u. Dickinson	30	14	15 - 16	17
Tetracycline:					
Tetracyclin-HCl	Oxoid	30	12	13 - 19	20
Phenicole:					
Chloramphenicol	Oxoid	30	16	17 - 20	21

Tab. 14 (Fortsetzung):

Antibiotikum	Hersteller	Beladung: IE bzw. µg/disc	Hemmzonendurchmesser in mm		
			Resistent ≤	mäßig empfindlich ≥ – ≤	empfindlich ≥
Macrolide und Verwandte:					
Erythromycin	Oxoid	15	10	11 - 13	14
Spiramycin	Pasteur	100	14	-	15
Lincomycin	Oxoid	15	13	-	14
Virginiamycin	Pasteur	15	14	-	15
Polypeptide:					
Polymyxin B	Oxoid	300	13	-	14
Bacitracin	Pasteur	10	7	-	8
Sonstige:					
Novobiocin	Oxoid	5	11	-	12

* = NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards

** = DIN, Deutsches Institut für Normung, e.V.

3.1.3.3. Testung des Verhaltens gegenüber Metallionen

Zur Testung wurden hierbei die zu prüfenden Verbindungen dem Nährboden direkt zugesetzt, nachdem diese in Wasser gelöst und mittels Filter sterilisiert worden waren. Wurden verschiedene Konzentrationen der gleichen Verbindung geprüft, wurde zunächst eine Verdünnungsreihe hergestellt.
Vor dem Gießen des Isosensitestagars (Oxoid CM 471) in Petrischalen erfolgte jeweils der Zusatz von einigen Millilitern der zu prüfenden Verbindungen. Die Keime wurden wie zur Durchführung des Plattendiffusionsverfahrens angezüchtet und die Bouillon ebenfalls 1:1 mit steriler, physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Desweiteren wurde jedoch anders verfahren: Entweder wurden die Keimsuspensionen einzeln mit der Öse auf die Nährbodenoberfläche aufgetragen (Meanderförmiges Verimpfen auf 1/4 der vierfach unterteilten Platte) oder durch Beimpfung mit dem Multipointinokulator. Für das Eintauchen der Beimpfungsstifte des Vielpunktbeimpfungsgerätes erwies es sich jedoch als erforderlich, jeweils einen Milliliter der zu prüfenden Bakterienkultur in noch sterile Einwegbehälter aus Plastik zu pipettieren, in die die Stifte des Beimpfungskopfes des Gerätes eintauchen konnten.
Auf diese Weise war es möglich, 20 Isolate anstelle von nur 4 Isolaten auf einer Platte gegenüber der zu testenden Verbindung zu exponieren. Die Bebrütung nach der Beimpfung betrug wiederum 18 Stunden bei 37^{o} C. Die Bewertung erfolgte nach dem Wachstum der Keime im Vergleich zu einer Kontrolle.

Als Kontrolle diente das Testmedium ohne Zusatz einer der zu prüfenden Verbindungen.
Als "resistent" wurden die Staphylokokken nur dann angesprochen, wenn die Intensität des Wachstums der Keime auf den Testplatten derjenigen auf den Kontrollplatten entsprach, oder nur geringfügig im Vergleich zur Kontrolle gemindert war. Kein Wachstum, bzw. stark vermindertes Wachstum, wurde stattdessen als "empfindlich" bewertet.

3.1.3.4. Prüfung verschiedener Stoffe auf ihre Plasmid-eliminierende Wirkung

Die Auswahl der 21 Isolate für diese Prüfung erfolgte unter Berücksichtigung, welchen Antibiotika und Metallionen gegenüber sie bei den vorangegangenen Testen sich als unempfindlich erwiesen hatten, und ob es sich aller Wahrscheinlichkeit nach dabei um eine Plasmid-codierte Resistenz handeln konnte. Jedes Isolat wurde zunächst in 5 ml Bouillon angezüchtet. Nach einer 18stündigen Bebrütungszeit bei 37^{o} C wurde die Bouillon-Kultur mit steriler, physiologischer Kochsalzlösung 1:1 verdünnt und davon zur Beimpfung der Teströhrchen mit dem "Curing-Stoff" jeweils eine Öse entnommen. Ein Bouillon-Röhrchen ohne Zusatz diente als Kontrolle. Jedes Isolat wurde insgesamt 10, bzw. 15 mal durch Übertragung einer Öse verdünnter Bouillon-Kultur in ein neues, noch unbewachsenes Teströhrchen mit dem gleichen "Curing-Stoff" passagiert. Nach der ersten, zehnten und fünfzehnten Passage erfolgte jeweils eine Testung zur

Überprüfung der ursprünglich festgestellten Resistenzeigenschaften. Hierzu wurden zunächst zur Erzielung von Einzelkolonien geeignete Verdünnungen mit steriler Kochsalzlösung hergestellt, davon eine Öse Flüssigkeit entnommen und diese auf der Nährbodenoberfläche einer Isosensitest-Agarplatte ausgespatelt. Von diesen Platten wurden nach 24stündiger Bebrütung bei 37° C mittels eines Stempels die Einzelkolonien auf eine sog. "Masterplate" übertragen. Diese diente dann nach erneuter Bebrütung über 24 Stunden bei 37° C der Anwendung der Replikatechnik. Dazu wurden die Kolonien der "Masterplate" kongruent auf die Platten mit den für die Überprüfung der Resistenzeigenschaften wichtigen Zusätzen übertragen (Abbildung 8 und 9).

Die auf LEDERBERG und LEDERBERG (1952) zurückgehende Replikatechnik wurde hierzu in Anlehnung an EXNER (1980) und NOVICK et al. (1980) modifiziert. Zu diesem Zweck wurde ein Impfnadelträger als Stempel mit einem Nadeldurchmesser von ca. 1,5 mm, entsprechend der durchschnittlichen Koloniengröße, hergestellt. Um die Identifizierungsmöglichkeiten der durch Replikation übertragenen Kolonien zu gewährleisten, wurden die Platten mit entsprechenden Markierungen versehen.

Nach jedem Übertragungsvorgang eines Stammes wurde der Stempel gesäubert, in Formalinlösung getaucht und 5 mal mit Alkohol abgeflammt.

Die jeweils nach 24stündiger Bebrütung bei 37^{o} C auf den verschiedenen Testplatten gewachsenen Kolonien wurden jeweils ausgezählt und die Zahl der Kolonien der Platten mit Zusatz und der Platten ohne Zusatz zur Ermittlung eventueller Spontanverluste in Beziehung zur Zahl der Kolonien der "Masterplate" gesetzt.

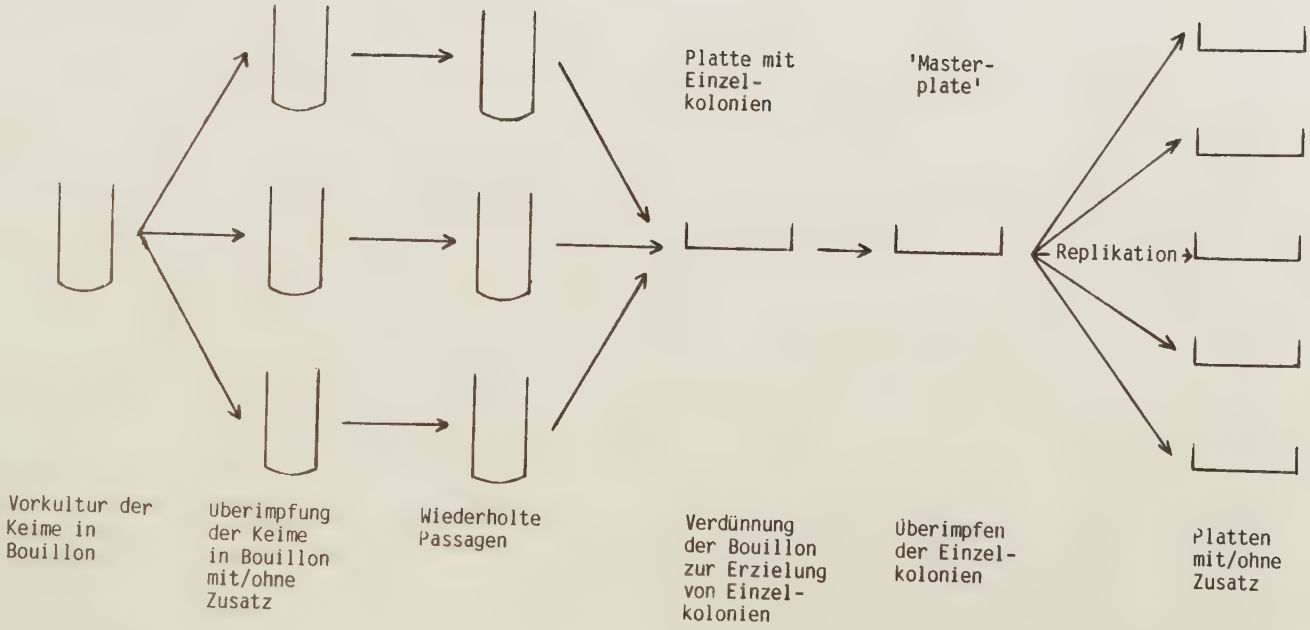


Abb. 8: Schema der Prüfung verschiedener Substanzen auf ihre Plasmid-eliminierende Wirkung.

Abb. 9: Erläuterung der Versuchsanordnung (von links nach rechts) für den Nachweis des Verlustes von Resistenzeigenschaften bei Staphylokokken.

Platte 1: Nach Auftragen entsprechend verdünnter Bakteriensuspensionen zur Erzielung von Einzelkolonien

Platte 2: sog. "Master-Plate" als Ausgangs-(Druck)platte der Replikation

Platte 3: Kontrollplatte am Schluß des Replikationsvorganges hergestellt, um das Übertragungsergebnis zu kontrollieren

Platte 4: Testplatte mit Antibiotikum, bzw. Metallionenzusatz zur Ermittlung der Kolonienzahl, die nach entsprechender Vorbehandlung noch Wachstum zeigt.

3.2. Ergebnisse und deren Besprechung

3.2.1. Verhalten selektiv mit Metallionen aus Untersuchungsmaterial vom Kalb und Schwein gezüchteter Staphylokokken gegenüber Antibiotika.

3.2.1.1. Allgemeine Resistenzquoten.

Die Testung der 805 Isolate von Staphylokokken, die mit verschiedenen Metallionen als Zusatz zum Mannit- Kochsalz- Phenolrot- Agar selektiv aus Nasen- Rachen- Raum und der Faecalflora von Kalb und Schwein gezüchtet worden waren, ergab, daß jeweils nur ein relativ geringer Prozentsatz gegenüber 14 der geprüften Antibiotika empfindlich war. Der Anteil empfindlicher Keime betrug beim Kalb 0,8% und beim Schwein 3,6%, ungeachtet dessen, ob die Staphylokokken aus Abstrichen des Nasen- Rachen- Raumes oder vom Analbereich der Tiere isoliert worden waren. Mehr als zwei Drittel aller Isolate (70,4%), erwiesen sich als Novobiocin- resistent. Demzufolge dominierten die stets saprophytisch lebenden Staphylokokken- Arten gegenüber denjenigen Spezies, zu denen die Krankheitserreger zählen (vergl. hierzu unter 2.1.). Sowohl bei den Novobiocin- sensiblen als auch den Novobiocin- resistenten Arten traten bestimmte Resistenzen gehäuft auf. Relativ hohe Resistenzquoten waren bei beiden Tierspezies gegenüber Erythromycin, Lincomycin, Tetracyclin, Chloramphenicol und Streptomycin zu verzeichnen.
Da Staphylokokken erfahrungsgemäß, wenn sie sich gegenüber dem Makrolid Erythromycin und dem Lincosamin Lincomycin als parallel resistent erweisen, auf alle anderen Makrolide sowie auch auf

das Lincosamin Clindamycin nicht ansprechen, wurde dem Vorliegen dieses für Staphylokokken beschriebenen konstitutiven Resistenztyps betreffend die Makrolide und verwandte Verbindungen (GEDEK,1980) Rechnung getragen und dafür zur Unterscheidung einer eventuell nur gegenüber Erythromycin (E) oder Lincomycin (L) nachgewiesenen Resistenz das Symbol "Mac" anstelle von E und L gewählt (Tabelle 15). Absolut gesehen wurde diese Makrolid-/Lincosamin- Resistenz bei den Isolaten von Kalb und Schwein überhaupt am häufigsten nachgewiesen (Tabelle 15).

Während beim Schwein die Resistenzquoten gegenüber den genannten Antibiotika allgemein höher lagen, wenn die Keime aus dem Nasen-Rachen- Raum stammten, traf für das Kalb das Umgekehrte zu.

Beim Kalb waren Staphylokokken häufiger als resistent gegenüber Makroliden/Lincosaminen, Tetracyclin, Chloramphenicol und Streptomycin anzutreffen, wenn sie aus der Faecalflora gezüchtet worden waren. Dagegen waren die Novobiocin- resistenten Staphylokokken bei beiden Tierspezies jeweils prozentual stärker vertreten in der Faecalflora als unter den Repräsentanten der Staphylokokken des Nasen- Rachen- Raumes. Anteilsmäßig waren beim Kalb allerdings stets die Novobiocin- sensiblen unterrepräsentiert gegenüber den Novobiocin- resistenten Staphylokokken. Dies kann mit dem unterschiedlichen Einsatz von Stoffen mit antibakterieller Wirkung bei Kalb und Schwein zusammenhängen (SIEBERT, 1982). Möglicherweise erwiesen sich die beim Kalb anzutreffenden Staphylokokken im Gegensatz zum Schwein vor allem dann als weitgehend unempfindlich gegenüber Metallionen, wenn sie gleichzeitig resistent gegenüber

Tab. 15: Vorkommen von Resistenz gegenüber Antibiotika bei mit Metallionen angezüchteten Staphylokokken von Kalb und Schwein.

Herkunft der Isolate	n	Resistenzquoten in Prozent														
		Mac	E	L	T	C	S	K	P	O	A	KF	B	PB	VI	NV
Kalb Nasen-Rachenraum	190	57,4	0	2,6	61,6	59,5	57,4	19,0	2,6	4,7	0	1,1	9,5	7,9	1,1	78,4
Kalb Faecalflora	166	79,5	0	1,2	77,1	78,3	68,0	18,1	0	3,0	0	0	9,0	0,6	0	91,6
insgesamt	356	67,7	0	1,9	68,8	68,3	62,4	18,5	1,4	3,9	0	0,6	9,3	4,5	o,6	84,6
Schwein Nasen-Rachenraum	215	83,3	1,9	0	54,9	67,9	70,2	5,1	9,8	1,4	0	0,9	6,5	7,0	2,8	49,3
Schwein Faecalflora	234	72,2	1,7	1,3	61,5	60,3	55,1	2,6	12,4	5,6	0	0	6,0	6,8	2,1	68,4
insgesamt	449	77,5	1,8	0,7	58,4	63,9	62,4	3,8	11,1	3,6	0	0,4	6,2	6,9	2,4	59,2

Zeichenerklärung: Mac = Makrolid/Lincosamin, E = Erythromycin, L = Lincomycin, T = Tetracyclin, C = Chloramphenicol, S = Streptomycin, K = Kanamycin, P = Penicillin G, O = Oxacillin, A = Ampicillin, KF = Cephalotin, B = Bacitracin, PB = Polymyxin B, VI = Virginiamycin, NV = Novobiocin.

Novobiocin waren. Relativ häufig wurde bei den Isolaten vom Kalb eine Resistenz gegenüber Kanamycin nachgewiesen, was früheren Beobachtungen entspricht (GEDEK und LINCKH, 1981). Bei den Isolaten vom Schwein lag die Quote an Penicillin- resistenten Staphylokokken höher als sie beispielsweise bei der diesbezüglichen Untersuchung von LINCKH (1980) insbesondere für Keime der Faecalflora festgestellt worden ist, was eventuell auf die Verwendung von Metallionen als Selektor bei der Anzucht der Staphylokokken zurückzuführen sein kann. Die Resistenzquoten gegenüber den anderen Antibiotika lagen teilweise weit unter 10 %. Dies gibt damit keinen Hinweis, daß zwischen einer Unempfindlichkeit gegenüber den als Selektoren verwendeten Metallionen und der Resistenz gegenüber einem bestimmten Antibiotikum eine Beziehung bestehen könnte (Tabelle 15).
Ampicillin war das einzige Antibiotikum, gegenüber dem überhaupt keine Resistenz festzustellen war.
Die relativ niedrige Quote an Resistenz gegenüber Polymyxin B ist derart zu interpretieren, daß Staphylococcus aureus nur in geringer Zahl im Material vertreten sein konnte, denn die Unempfindlichkeit gegenüber Polymyxin B gilt als ein Speziesmerkmal von Staphylococcus aureus (LINCKH, 1980). Eine Überprüfung von 441 Isolaten auf das Vorhandensein zellgebundener Koagulase lieferte dann auch nur bei einem einzigen Isolat vom Schwein ein positives Resultat.
Bei einer Auflistung, mit welcher Häufigkeit die einzelnen Resistenzen gegenüber den geprüften Antibiotika bei den Novobiocin-resistenten und Novobiocin-empfindlichen Staphylokokken bei Kalb und Schwein aufgetreten waren (Tabelle 16), steht allerdings in der

Tab. 16: Resistenzquoten von Staphylokokken aus dem Nasen-Rachenraum und aus der Faecalflora von Kalb und Schwein unter Berücksichtigung des Verhaltens gegenüber Novobiocin.

Antibiotikum	Novobiocin-resistent in %		Novobiocin-empfindlich in %	
	Kalb n = 300	Schwein n = 266	Kalb n = 56	Schwein n = 183
Mac	65,3	86,4	80,4	63,9
E	0	1,5	0	2,2
L	2,3	0,8	0	0,5
T	66,3	78,9	80,4	28,4
C	66,7	73,3	75,0	49,7
S	58,7	63,5	78,6	60,7
K	20,0	3,8	10,7	3,8
P	0,7	15,0	5,4	5,5
O	4,3	5,3	1,8	1,1
A	0	0	0	0
KF	0,3	0,4	1,8	0,5
B	8,7	9,0	12,5	2,2
PB	2,7	7,1	14,3	6,6
VI	0,3	2,6	1,8	2,2

Zeichenerklärung: Mac = Makrolid/Lincosamin, E = Erythromycin, L = Lincomycin, T = Tetracyclin, C = Chloramphenicol, S = Streptomycin, K = Kanamycin, P = Penicillin G, O = Oxacillin, A = Ampicillin, KF = Cephalotin, B = Bacitracin PB = Polymyxin B, VI = Virginiamycin.

Rangfolge die Resistenz gegenüber Polymyxin B weiter oben bei den Novobiocin-sensiblen Staphylokokken als bei den Novobiocin-resistenten Staphylokokken. Die Resistenz gegenüber Polymyxin B ist aber keinesfalls auf Staphylococcus aureus beschränkt, sondern kann auch bei anderen Staphylokokken vorkommen.

Bei den Novobiocin-resistenten Staphylokokken waren grundsätzlich Resistenzdeterminanten häufiger beim gleichen Keim vorhanden, wodurch sich in der Häufigkeit zu den Novobiocin-sensiblen Staphylokokken Unterschiede ergeben können. Die vier ersten Stellen der Rangfolge nahmen jeweils unabhängig von der Herkunft der Isolate und den zwei Gruppen von Staphylokokken, Novobiocin-resistent und Novobiocin-empfindlich, die gleichen Antibiotika ein (Tabelle 17). Hierin bestand Übereinstimmung mit den hierüber bereits von anderen Untersuchern vorliegenden Testergebnissen, insofern sie die landwirtschaftlichen Nutztiere betreffen (GEDEK, 1980; LINCKH, 1980), weichen aber ab von hierüber von Staphylokokken des Menschen und von Hunden vorliegenden Befunden (PAUL-EHRLICH-Gesellschaft, 1980, 1982; OBERWALLNER, 1982).

Tab. 17: Rangfolge der Häufigkeit von Resistenz gegenüber Antibiotika bei Staphylokokken aus dem Nasen-Rachen-Raum und aus der Faecalflora von Kalb und Schwein, aufgeschlüsselt aufgrund ihrer Empfindlichkeit gegenüber Novobiocin.

Rangfolge	Herkunft der Isolate und Verhalten gegenüber Novobiocin			
	Novobiocin-resistent		Novobiocin-empfindlich	
	Kalb	Schwein	Kalb	Schwein
	n = 300	n = 266	n = 56	n = 183
1	C	Mac	Mac*	Mac
2	T	T	T*	S
3	Mac	C	S	C
4	S	S	C	T
5	K	P	PB	PB
6	B	B	B	P
7	O	PB	K	K
8	PB	O	P	E*
9	L	K	O*	B*
10	P	VI	KF*	VI*
11	VI*	E	VI*	O
12	KF*	L*		KF*
13		KF*		L*

Zeichenerklärung: * = Resistenzquoten identisch.
Mac = Makrolid/Lincosamin, E = Erythromycin, L = Lincomycin, T = Tetracyclin, C = Chloramphenicol, S = Streptomycin, K = Kanamycin, P = Penicillin G, O = Oxacillin, A = Ampicillin, KF = Cephalotin, B = Bacitracin, PB = Polymyxin B, VI = Virginiamycin.

Da eine Resistenz gegenüber Makroliden bei Staphylokokken je nach Herkunft der Stämme, vergesellschaftet mit einer gleichzeitigen Unempfindlichkeit gegenüber Spektinomycin, vorkommen kann (LACEY, 1981), wurden 612 Isolate noch zusätzlich gegenüber diesem Aminoglykosid getestet. Dabei stellte sich heraus, daß die geprüften Isolate sogar noch häufiger resistent waren gegenüber Spektinomycin als gegenüber Makroliden (Tabelle 18). Unter Berücksichtigung, mit welcher Häufigkeit die Keime zugleich auch Resistenz gegenüber Streptomycin zeigten, war festzustellen, daß eine Unempfindlichkeit gegenüber diesen beiden Aminoglykosiden gleichzeitig in einem hohen Prozentsatz vorlag, während eine Resistenz gegenüber Streptomycin allein nur bei einem relativ geringen Prozentsatz nachgewiesen wurde.
Das besagt, daß eine Spektinomycin-Resistenz, vergesellschaftet mit Makrolid-Resistent, nicht nur eine Eigenschaft von S. aureus des Menschen ist, sondern auch bei saprophytären, tierischen Staphylokokken vorkommt. Allerdings erwiesen sich die Isolate größtenteils zugleich auch Streptomycin-resistent (Tabelle 19), was auf das Vorliegen des konstitutiven Resistenztyps und nicht auf den induzierbaren Resistenztyp gegenüber Makroliden/Lincosaminen zurückzuführen sein kann.

Tab. 18: Vorkommen von Resistenz gegenüber Makroliden und verwandten Antibiotika sowie Spektinomycin bei Staphylokokken von Kalb und Schwein.

Herkunft und Anzahl der Isolate	Resistenzquoten in Prozent				
	Mac	Sp	Mac/Sp	E/Sp	L/Sp
Kalb, Faecalflora n = 166	78,9	94,6	76,5	0	1,2
Kalb, Nasen-Rachen-Raum, n = 190	57,4	94,2	56,8	0	2,6
Schwein, Faecalflora n = 148	64,7	89,7	56,8	1,4	0
Schwein, Nasen-Rachen-Raum, n = 108	82,4	86,1	73,1	0	0

Zeichenerklärung: Mac = Makrolid/Lincosamin, Sp = Spektinomycin, Mac/Sp = gleichzeitige Resistenz gegenüber Makroliden/Lincosaminen und Spektinomycin, E/Sp = gleichzeitige Resistenz gegenüber Erythromycin und Spektinomycin, L/Sp = gleichzeitige Resistenz gegenüber Lincomycin/Spektinomycin.

Tab. 19: Vorkommen von Resistenz gegenüber Spektinomycin und Streptomycin bei Staphylokokken von Kalb und Schwein.

Resistenz gegenüber in %	Isolate vom Kalb		Isolate vom Schwein	
	Faecalflora n = 166	Nasen-Rachen-Raum n = 190	Faecalflora n = 148	Nasen-Rachen-Raum n = 108
Spektinomycin insg.	94,6	94,2	89,2	86,1
Streptomycin insg.	68,1	57,4	41,9	66,7
Spektinomycin und Streptomycin gleichzeitig	66,3	55,8	39,2	55,6
Spektinomycin allein	28,3	38,4	50,7	30,5
Streptomycin allein	1,8	1,6	2,7	11,1

3.2.1.2. Häufigkeit bestimmter Resistenzbilder unter Berücksichtigung der verschiedenen, als Selektor verwendeten Metallionen.

Bei Berücksichtigung, mit welcher Häufigkeit bestimmte Resistenzbilder gegenüber den getesteten Antibiotika, je nach Art des verwendeten Selektors im Anzuchtmedium, nachgewiesen werden konnten, zeigte sich, daß bei Zugrundelegung der Testergebnisse der gegenüber allen Isolaten (n=805) geprüften 14 Antibiotika (s. Tabelle 20 bis 23) bestimmte Merkmalskombinationen unabhängig von der Art des Selektors bei Vorliegen von 1fach- bis maximal 11fach-Resistenz bei beiden Tierspezies dominierten. Dies ist darauf zurückzuführen, daß gegenüber Makrolid/Lincosamin-resistente Staphylokokken zugleich gegenüber Tetracyclin, Streptomycin und Chloramphenicol oder zumindest einem oder zwei dieser Stoffe gegenüber resistent waren (Tabell 20 bis 23). Dabei bestand kaum ein Unterschied hinsichtlich der Zugehörigkeit der Staphylokokken zu den Gruppen Novobiocin-sensibler und Novobiocin-resistenter Arten. Die größte Vielfalt an Resistenzbildern, unter Einbeziehung der Resistenz gegenüber weiteren Antibiotika als die vorgenannten, wurde bei Staphylokokken vom Schwein festgestellt (Tabelle 22 und 23). Demzufolge ergab sich hierbei auch eine höhere Zahl an gleichzeitiger Mehrfachresistenz, nämlich 9fach-Resistenz bei Staphylokokken des Nasen-Rachen-Raumes und 11fach-Resistenz bei Staphylokokken aus der Faecalflora. Beim Kalb lag stattdessen maximal eine 8fach-Resistenz bei Staphylokokken des Nasen-Rachenraumes und 7fach-Resistenz bei Staphylokokken aus der Faecalflora vor (Tabelle 20 und 21).

Tab. 20: Resistenzeigenschaften von Staphylokokken aus dem Nasen-Rachen-Raum vom Kalb gegenüber Antibiotika bei Verwendung von Metallionen als Selektor.

Mehrfach-, bzw. Einfachresistenz	Mac	Resistenzbild E	L	T	C	S	K	P	O	A	KF	B	PB	VI	NV	Selektor ohne	Pb^{2+}	Hg^{2+}	Cd^{2+}	As^{3+}	Zn^{2+}	n
8-fach	Mac			T	C	S	K		O			B			NV		1					1
7-fach	Mac		L	T				P	O		KF			VI	NV			1				1
	Mac			T	C	S						B	PB		NV					1		1
	Mac			T	C	S						B	PB	VI								1
	Mac			T		S	K	P			KF		PB						1			1
	Mac			T	C	S	K					B			NV		1		1			2
	Mac			T	C	S	K		O						NV		4				1	4
	Mac			T	C	S	K	P							NV			1				1
6-fach	Mac			T	C	S						B			NV			4				4
	Mac			T	C	S	K								NV		11	1			1	1
	Mac			T	C	S	K					B					1					1
			L	T	C	S	K								NV		2					2
	Mac			T	C	S	K								NV		1					1
	Mac				C	S	K					B			NV							1
	Mac			T	C	S							PB		NV				3	1		4
	Mac			T	C	S			O				PB						1			1
	Mac			T	C	S			O						NV				1			1
	Mac			T	C	S		P					PB						1			1
5-fach	Mac			T	C							B			NV			1				1
	Mac			T	C				O						NV		1					1
	Mac			T	C		K								NV		3					3
	Mac			T	C	S									NV	1		5	3	15		24
	Mac			T	C	S						B				1			1		1	3
			L	T	C	S									NV	1						1
				T	C	S							PB		NV	1						1
	Mac			T	C	S							PB						4			4
	Mac			T	C	S	K												1			1
	Mac			T	C	S		P											1			1
	Mac				C	S	K								NV		1		2			3
4-fach	Mac			T	C										NV		2	1	1	4		8
	Mac			T		S									NV		1					1
	Mac			T	C	S												1	11	2		14
	Mac				C	S						B							1			1
	Mac				C	S	K									1						1
					C	S							PB		NV	1						1
3-fach			L				K								NV		1					1
	Mac				C										NV			1				1
	Mac			T		S																1
				T	C	S														1		1
	Mac				C	S													1			1
				T	C										NV			1	2			3
																			1			1
					C										NV							1
2-fach				T											NV					1		1
	Mac			T											NV	1			2	6		9
						S											1					1
															NV			6		3		9
1-fach				T											NV	21	5	13		8	1	48
																			1	1		2
Sensibel																2						2
In toto		109	0	5	117	113	109	36	5	9	0	2	18	15	2	149	30	36	36	40	43	5	190

Zeichenerklärung für Tabelle 20 bis 23: s. 3.1.

Tab. 21: Resistenzeigenschaften von Staphylokokken aus der Faecalflora vom Kalb gegenüber Antibiotika unter Verwendung von Metallionen als Selektor.

Mehrfach-, bzw. Einfachresistenz	Resistenzbild															Selektor							
	Mac	E	L	T	C	S	K	P	O	A	KF	B	PB	VI	NV	ohne	Pb^{2+}	Hg^{2+}	Cd^{2+}	As^{3+}	Zn^{2+}		n
7-fach	Mac			T	C	S	K					B			NV	3	1	2		2			8
6-fach	Mac				C	S	K					B			NV						1		1
	Mac			T	C	S	K								NV	3	3	2	2	2	1		13
	Mac			T	C	S						E			NV	3	1	2					6
	Mac			T	C	S			O						NV				1				1
			L	T	C	S	K								NV					1			1
	Mac			T	C	S							PB		NV		1						1
5-fach	Mac			T	C		K								NV		1			1			2
	Mac			T	C				O						NV		1			2			3
	Mac			T	C	S	K									1	1						2
	Mac			T	C	S									NV	12	8	12	4	18	5		59
	Mac				C	S	K								NV				1	1	2		4
4-fach	Mac			T	C										NV	4	5	1	1	5			16
			L	T	C										NV	1							1
	Mac			T					O						NV					1			1
	Mac			T	C	S										2		1	1		1		5
	Mac				C	S									NV		1	2			1		4
	Mac			T		S									NV	1		1					2
3-fach	Mac			T	C														1				1
	Mac				C	S													1				1
	Mac			T		S													1				1
2-fach				T											NV			1					1
						S									NV				2	1			3
1-fach				T											NV	6	1 5	1 7	1 1	1 2	3		4 24
Sensibel																1							1
in toto	132	0	2	128	13o	113	3o	0	5	0	0	15	1	0	152	37	29	32	17	37	14		166

Tab. 22: Resistenzeigenschaften von Staphylokokken aus dem Nasen-Rachen-Raum vom Schwein gegenüber Antibiotika bei Verwendung von Metallionen als Selektor.

Mehrfach-, bzw. Einfachresistenz	Resistenzbild																Selektor						
	Mac	E	L	T	C	S	K	P	O	A	KF	B	PB	VI	NV		ohne	Pb^{2+}	Hg^{2+}	Cd^{2+}	As^{3+}	Zn^{2+}	n
9-fach	Mac			T				P	O		KF	B	PB	VI	NV			1					1
8-fach	Mac			T	C	S	K	P					PB		NV				1				1
7-fach	Mac			T	C	S						B		VI	NV			1					1
	Mac			T	C	S	K	P					PB					1					1
	Mac			T	C	S		P					PB		NV				1				1
	Mac			T	C	S		P				B			NV				2				2
6-fach	Mac				C	S	K						PB		NV		1						1
	Mac			T		S		P					PB		NV			1					1
	Mac			T	C	S						B			NV			1	4		2		7
	Mac			T	C	S		P							NV			1	2		4		7
	Mac			T	C	S	K								NV				2				2
	Mac			T	C	S							PB		NV				1				1
		E		T		S	K	P					PB							1			1
	Mac			T	C	S			O						NV					1	1		2
5-fach	Mac			T	C	S							PB				1						1
	Mac			T	C	S									NV		1	3	8	9	10	1	32
	Mac			T	C	S		P										1			1		2
	Mac			T		S								VI	NV				1				1
	Mac				C	S	K								NV				1				1
	Mac			T	C			P							NV								1
	Mac			T	C							B			NV						1		1
	Mac				C	S							PB				1	1	1				3
	Mac				C	S									NV		1		3	2	2		8
	Mac			T		S									NV			1		1	2		4
		E		T		S							PB					1					1
4-fach	Mac				C	S		P										1					1
	Mac			T	C	S												1					1
	Mac			T	C										NV				1	2	2	1	6
		E		T	C										NV			1	3	1	6		11
	Mac				C						KF			VI				1					1
	Mac				C	S	K												1				1
	Mac			T				P							NV					2			2
				T		S		P				B									1		1
																					1		1
	Mac			T	C	S											1						3
	Mac				C	S											4	2	5	1	2	1	15
				T		S									NV			2	1	1	2		6
	Mac						K								NV			1			1		2
3-fach	Mac			T	&										NV			1					1
	Mac			T														1	1	1	2		5
	Mac					S							PB		NV				1	1	2		4
				T	C														1				1
	Mac				C									VI	NV				1		3		4
	Mac					S	K													1			1
	Mac			T		S														1			1
																							2
	Mac				C	S											1	1	1	2			6
				T		S									NV		3	2	2	5	12		24
2-fach	Mac			T														1					1
	Mac				C													1					1
	Mac					S								VI				4		2	1		7
												B	PB					1					1
		E		T															1				1
				T		S														1			1
																					2		2
	Mac																	1		1	4		6
1-fach					C														1	2			3
				T															1	1			2
Sensibel																				1			1
																	1	2		2			5
in toto	179	4	0	118	146	151	11	21	3	0	2	14	15	6	106		15	37	48	43	69	3	215

Tab. 23: Resistenzeigenschaften von Staphylokokken aus der Faecalflora vom Schwein gegenuber Antibiotika bei Verwendung von Metallionen als Selektor.

Mehrfach-, bzw. Einfachresistenz	Resistenzbild																Selektor						
	Mac	E	L	T	C	S	K	P	O	A	KF	B	PB	VI	NV	ohne	Pb^{2+}	Hg^{2+}	Cd^{2+}	As^{3+}	Zn^{2+}	n
11-fach	Mac			T	C	S	K	P	O			B	PB	VI	NV				1			1
10-fach	Mac			T	C	S		P	O			B	PB	VI	NV		1	1				2
9-fach	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	o
8-fach	Mac			T	C	S	K	P				B			NV		1					1
	Mac			T	C	S		P				B	PB		NV		1	1		1		3
7-fach	Mac			T	C	S		P					PB		NV		2			2		4
		E		T		S		P					PB	VI	NV				1			1
	Mac			T	C	S		P				B			NV					1		1
	Mac			T	C	S			O				PB		NV					1		1
	Mac			T	C	S		P				B	PB							1		1
6-fach	Mac			T	C	S			O						NV	1						1
	Mac			T	C	S		P							NV		2	1	1	1		5
	Mac			T	C	S							PB		NV		1					1
	Mac			T	C	S	K								NV		1					1
	Mac			T	C	S						B			NV				1			1
	Mac			T	C	S		P						VI					1			1
5-fach	Mac			T	C	S									NV	4	1	9	5	15		34
	Mac			T		S			O						NV	1						1
	Mac			T		S		P							NV		3		1			4
	Mac			T	C		K								NV		1					1
	Mac			T		S		P	O						NV		1					1
			L	T	C	S									NV			1				1
	Mac			T	C			P							NV					1		1
			L	T	C										NV					1		1
4-fach	Mac			T	C	S										1				2		4
	Mac			T	C										NV	9	3	5		8		25
	Mac				C	S									NV	3	2		1	1		7
	Mac				C				O						NV	1						1
				T		S						B			NV	1				1		2
					C	S						B	PB			1						1
	Mac			T		S									NV	3	2	1		1		7
				T	C	S									NV	1				2		3
	Mac			T		S							PB				1					1
	Mac			T				P							NV		1		1			2
	Mac				C	S	K											1				1
	Mac			T					O						NV			1				1
3-fach	Mac								O						NV	1				1		2
	Mac				C	S										2	1	1		2		6
	Mac					S									NV	5	1					6
					C	S									NV	3						3
					C	S	K									1						1
						S						B			NV	1						1
	Mac			T											NV	1	1	2		1		5
	Mac			T		S										3						3
				T	C										NV	1			1			2
				T		S									NV	1						1
		E		T											NV		1					1
	Mac				C										NV		1	1		2		4
	Mac			T	C													1		2		3
				T					O						NV					1		1
	Mac					S			O											1		1
	Mac														NV	1	3		1	5		10
	Mac					S										1			4			4
	Mac				C											1	3		1	2		7
				T	C											2						2
						S									NV	1				1		2
				T											NV	1	1		1	2		5
2-fach					C										NV	1						1
				T		S											1					1
		E		T													1					1
					C	S												1				1
		E													NV			1				1
			L					P												1		1
				T												4				1		5
					C											3	2	1		1		7
1-fach						S										3	1	3				7
	Mac															3						3
															NV	1						1
Sensibel																5	1	3		2		11
In toto	169	4	3	144	141	129	6	29	13	0	0	14	16	5	160	72	42	36	20	64	0	234

Beim Schwein und beim Kalb wurden viele Resistenzbilder überhaupt nur einmal nachgewiesen.

Die Keime mit einer größeren Zahl (> 5-6fach) an Resistenzdeterminanten waren, von wenigen Ausnahmen beim Kalb abgesehen, mit einem der zugesetzten Metallionen als Selektor angezüchtet worden.

Die Staphylokokken, die ohne Selektorzusatz zum Mannit-Kochsalz-Phenolrot-Agar erfaßt wurden, waren weitaus geringer mehrfachresistent und erwiesen sich oftmals überhaupt nur 1fach-resistent oder waren sogar gegenüber den geprüften Antibiotika sensibel (Tabelle 20 bis 23).

Die ungleiche Zahl an Isolaten, die nach selektiver Anzucht mit den Metallionen Pb^{2+}, Hg^{2+}, Cd^{2+}, As^{3+} und Zn^{2+} getestet wurden, resultierte aus der unterschiedlichen Entwicklung von Staphylokokken in Gegenwart des jeweils zugesetzten Selektors. Insbesondere mit Zn^{2+} gelangten Staphylokokken nur relativ selten zur Entwicklung. Dagegen wuchsen Staphylokokken mit Pb^{2+}, Hg^{2+}, Cd^{2+} und As^{3+} häufiger an, als ohne Zusatz, wenn das Untersuchungsmaterial aus dem Nasen-Rachen-Raum des Schweines stammte.

Ein Selektoreffekt des jeweiligen Metallions bezüglich einer Resistenz gegenüber einem bestimmten Antibiotikum war zu verzeichnen beispielsweise bei Kanamycin durch Blei und Zink, dagegen bei Penicillin G vor allem durch Blei und Cadmium (Tabelle 24).

Bei diesen und einigen anderen Antibiotika waren ohne Zusatz eines Metallionenselektors überhaupt keine gegenüber den Antibiotika resistenten Staphylokokken nachweisbar; erst unter dem Einfluß eines Metallionenselektors traten sie hervor und wurden daraufhin erfaßt.

Tab. 24: Einfluß von Metallionen als Selektor auf die Antibiotikaresistenz bei Staphylokokken aus dem Nasen-Rachen-Raum und der Faecalflora von Kalb und Schwein.

Angaben jeweils in Prozent

Antibiotikum	Selektor					
	ohne	Pb^{2+}	Hg^{2+}	Cd^{2+}	As^{3+}	Zn^{2+}
Mac	55,2	79,2	71,1	80,8	78,4	81,8
E	0	2,8	0,6	2,5	0	0
L	1,3	2,1	1,3	0	1,4	0
T	46,8	67,4	59,7	68,3	72,3	54,5
C	52,6	56,9	66,4	72,5	76,6	81,8
S	53,2	56,9	66,4	76,7	59,6	81,8
K	6,5	25,7	7,2	10,0	3,3	31,8
P	0	12,5	7,2	8,3	7,5	0
O	2,6	6,9	1,3	5,0	3,8	0
A	0	0	0	0	0	0
KF	0	0,7	1,3	0,8	0	0
B	6,5	7,6	11,2	4,2	5,2	18,2
PB	3,9	9,0	4,6	11,7	3,3	0
VI	0	2,8	2,6	3,3	0	0
NV	67,5	74,3	78,3	47,5	76,1	81,8
sensibel	5,8	2,1	2,o	1,7	0,9	0

Zeichenerklärung : s. 3.1.

Dies trifft für Keime mit Resistenz gegenüber Erythromycin oder Virginiamycin zu. Eine Selektion Virginiamycin-resistenter Staphylokokken war erfolgt mit Blei, Quecksilber und Cadmium, nicht aber Arsen und Zink.

Bei den Peptolidantibiotika Bacitracin und Polymyxin B waren lediglich die Resistenzquoten höher mit Selektor als ohne Selektor. Bacitracin-resistente Staphylokokken wurden häufiger selektiert mit Quecksilber und Zink, Polymyxin B-resistente Staphylokokken dagegen mit Blei und Cadmium. Die Auflistung (Tabelle 25), mit welcher Häufigkeit Resistenz gegenüber den 14 ausgewählten Antibiotika bei den geprüften 805 Staphylokokken-Isolaten von Kalb und Schwein bei Ansatz mit den verschiedenen Metallionen als Selektor und ohne Selektor nachweisbar waren, ergab sich eine unterschiedliche Reihenfolge und je nach Zahl der Resistenzdeterminanten auch eine kürzere oder längere Reihe.

Je nachdem, ob die Keime häufiger Novobiocin-sensibel oder Novobiocin-resistent waren, steht die Makrolid/Lincosamin-Resistenz (Mac) an erster oder zweiter Stelle, ausgenommen bei Cd^{2+} als Selektor. Mit diesem Selektor waren die Keime nur zu einem relativ geringen Prozentsatz auch Novobiocin-resistent, was dafür spricht, daß durch dieses Metallion in erster Linie die Staphylokokken der Epidermidis-Gruppe selektiert werden. Hg^{2+}-Ionen im Medium begünstigen stattdessen hauptsächlich die saprophytischen, Novobiocin-resistenten Staphylokokken im Wachstum. Während die ohne Selektor sowie mit Cd^{2+} als Selektor angezüchteten Keime häufiger Streptomycin-, als Chloramphenicol- und Tetracyclin-resistent waren, ergab sich für die anderen Metallionen diesbezüglich eine davon abweichende Reihenfolge (Tabelle 25).

Tab. 25: Rangfolge der Häufigkeit von Resistenz gegenüber Antibiotika bei Staphylokokken von Kalb und Schwein unter Berücksichtigung der Wirkung von Metallionen als Selektor.

Rangfolge	Selektor					
	ohne	Pb^{2+}	Hg^{2+}	Cd^{2+}	As^{3+}	Zn^{2+}
1	NV	Mac	NV	Mac	Mac	Mac *
2	Mac	NV	Mac	S	NV	NV *
3	S	T	C	C	T	C *
4	C	C	S	T	C	S *
5	T	S	T	NV	S	T
6	K *	K	B	PB	P	K
7	B *	P	K *	K	B	B
8	PB	PB	P *	P	O	
9	O	B	PB	O	K *	
10	L	O	VI	B	PB *	
11		E *	L *	VI	L	
12		VI *	O *	E		
13		L	KF	KF		
14		KF	E			

Zeichenerklärung: s. 3.1.

* = Resistenzquoten identisch

Bei Zugrundelegung, mit welcher Häufigkeit durchschnittlich pro Isolat Resistenzdeterminanten nachweisbar waren, ergaben sich die niedrigsten Quoten unter 3 pro Isolat bei Staphylokokken des Nasen-Rachen-Raumes vom Kalb und der Faecalflora des Schweines, wenn die Anzucht ohne Zusatz eines Metallions erfolgt war (Tabelle 26).

Mit Zusatz eines Metallions als Selektor war die Anzahl der Resistenzdeterminanten pro Isolat bei Staphylokokken vom Schwein, trotz einer größeren Vielfalt an Resistenzbildern und der Maximalzahl an Mehrfachresistenz, im Durchschnitt um eine Resistenzdeterminante niedriger als beim Kalb. Diese Beobachtung stimmt mit der Feststellung bei E. coli von Kalb und Schwein überein, wonach sich prinzipiell die Isolate vom Kalb als höher mehrfach-resistent gegenüber Antibiotika erwiesen haben, als solche vom Schwein, und wobei es sich,wie für Staphylokokken anzunehmen ist, um Plasmid-codierte Resistenzeigenschaften handelte (SIEBERT, 1982).

Tab. 26: Durchschnittliche Zahl an Resistenzdeterminanten pro Isolat bei Staphylokokken von Kalb und Schwein.

Selektor	Herkunft der Isolate			
	Kalb		Schwein	
	Nasen-Rachen-Raum n=190	Faecalflora n=166	Nasen-Rachen-Raum n=215	Faecalflora n=234
ohne	1,8	4,4	3,2	2,8
Pb^{2+}	5,0	4,2	3,5	4,0
Hg^{2+}	3,1	4,0	4,3	3,8
Cd^{2+}	4,5	3,9	3,2	4,4
As^{3+}	3,3	4,6	3,5	3,9
Zn^{2+}	5,0	4,1	4,0	-

3.2.2. Vergleich der Resistenzquoten gegenüber Antibiotika der Staphylokokken von Kalb und Schwein mit denjenigen von anderen Tierarten und des Menschen.

Bei der Testung weiterer Isolate von Schweinen aus der Stammsammlung des Instituts und von Staphylokokken, die zu Vergleichszwecken aus Untersuchungsmaterial von Broilern, Hunden sowie des Menschen angezüchtet und geprüft worden waren, zeigte sich, daß die gleichzeitige Resistenz gegenüber Makroliden und Lincosaminen (Mac) vor allem eine Eigenschaft ist, die bei Staphylokokken der landwirtschaftlichen Nutztiere wie Kalb, Schwein und Huhn vorkommt und deren Vertreter dann jeweils auch zu einem höheren Prozentsatz als Staphylokokken vom Hund Novobiocin-resistent sind (Tabelle 27).
Unter den Isolaten vom Menschen befand sich kein einziger Novobiocin-resistenter Vertreter, da es sich hierbei ausschließlich um Staphylococcus aureus handelte. Demzufolge war bei diesen Isolaten auch die Quote an Polymyxin B-Resistenz entsprechend hoch (Tabelle 28).
Weitere Unterschiede bestanden bei den Staphylococcus aureus-Isolaten, im Vergleich zu den Staphylokokken tierischer Herkunft (Tabelle 27 und 28), in einer relativ hohen Quote an Penicillin G-Resistenz ($>$ ein Drittel), aber einer weitgehenden Empfindlichkeit ($>$ zwei Drittel) gegenüber Tetracyclin, Streptomycin und Chloramphenicol.
Die Quoten an Resistenz gegenüber Tetracyclin, Streptomycin und Chloramphenicol erreichten beim Broiler sowie beim Hund nicht diejenigen von Kalb und Schwein, dafür wurden bei ihnen häufiger Isolate gefunden, die gegenüber Tetracyclin nicht empfindlich, sondern nur

mäßig empfindlich waren (Tabelle 27). Dergleichen war bei den Staphylokokken von Hunden zu beobachten, betreffend das Verhalten gegenüber Penicillin G, während beim Broiler Penicillin G-resistente Staphylokokken häufiger anzutreffen waren als mäßig empfindliche. Gegenüber den anderen getesteten ß-Lactam-Antibiotika erwiesen sich die Keime, unabhängig welcher Herkunft sie waren, weitgehend sensibel (Tabelle 27 und 28). Bei Ampicillin war die Quote an nur mäßig-empfindlichen Keimen mit einer etwa 50-60 %igen Differenz bei Staphylokokken von Hund und Mensch im Vergleich zu Huhn und Schwein allerdings auffallend hoch. Staphylokokken vom Hund sowie die Staphylococcus aureus-Isolate vom Menschen erwiesen sich wie die vom Kalb etwa zu gleichem Prozentsatz als resistent gegenüber Kanamycin, nur mäßig Kanamycin-empfindliche Keime waren jedoch geringer bei diesen Vertretern als beim Kalb. Die Staphylokokken vom Schwein zeigten diesbezüglich grundsätzlich davon abweichendes Verhalten (Tabelle 28). Geringe Quoten an Resistenz gegenüber den Peptolidantibiotika Virginiamycin, Bacitracin und Polymyxin B waren nur bei den Staphylokokken der landwirtschaftlichen Nutztiere zu verzeichnen, was einerseits mit der Verabreichung der ersten beiden Antibiotika als Wachstumsförderer im Zusammenhang stehen kann, andererseits, was das Polymyxin B anbelangt, darauf zurückzuführen sein kann, daß Staphylococcus aureus in der Flora des Verdauungstraktes von Nutztieren nur selten anzutreffen ist (GEDEK, 1980; LINCKH, 1980).

Tab. 27: Gegenüberstellung der Quoten von resistenten (R), mäßig empfindlichen (ME) und empfindlichen (E) Staphylokokken tierischer Herkunft sowie von Staphylococcus aureus des Menschen gegenüber Antibiotika.

a) Testergebnisse mit 8 Stoffen (kleines Antibiogramm)

Antibiotikum	Herkunft und jeweilige Anzahl geprüfter Isolate in Prozent														
	Kalb(n=356)			Schwein(n=484)			Broiler(n=49)			Hund(n=60)			Mensch(n=73)		
	R	ME	E	R	ME	E	R	ME	E	R	ME	E	R	ME	E
Novobiocin	84,6		15,4	57,9		42,1	30,6		69,4	6,7		93,3			100
Erythromycin	67,1	1,4	31,5	79,3	0,6	20,1	69,4		30,6	8,3	3,3	88,4	8,2	5,5	86,3
Lincomycin	69,4		30,6	79,5		20,5	61,2		38,8	10,0		90,0	1,4		98,6
Tetracyclin	66,3	3,4	30,3	55,8	14,3	29,9	8,2	36,7	55,1	21,7	16,7	61,6	12,3	8,2	79,5
Chloram-phenicol	67,9	0,6	31,5	61,8	0,6	37,6	34,7		65,3	15,0		85,0	4,1		95,9
Streptomycin	61,0	3,4	35,6	60,3	4,5	35,2	24,5	4,1	71,4	15,0	1,7	83,3	17,8	16,4	65,8
Penicillin G	1,4	28,7	69,9	10,1	27,9	62,0	18,4	2,1	79,5	5,0	23,3	71,7	37,0	39,7	33,3
Virginiamycin	0,6		99,4	2,3		97,7			100			100			100

Tab. 28: Gegenüberstellung der Quoten von resistenten (R), mäßig empfindlichen (ME) und empfindlichen (E) Staphylokokken tierischer Herkunft sowie von Staphylococcus aureus des Menschen gegenüber Antibiotika

b) Testergebnisse mit 6 weiteren Stoffen (großes Antibiogramm)

Antibiotikum	Herkunft und jeweilige Anzahl geprüfter Isolate in Prozent											
	Kalb(n=356)			Schwein(n=449)			Hund(n=25)			Mensch(n=73)		
	R	ME	E	R	ME	E	R	ME	E	R	ME	E
Kanamycin	18,5	14,9	66,6	3,8	0,4	95,8	16,0	4,0	80,8	15,1	1,4	83,5
Oxacillin	3,9		96,1	3,6		96,4			100	2,8		97,2
Ampicillin		6,7	93,3		15,1	84,9		56,0	44,0		74,0	26,0
Cephalotin	0,6		99,4	0,4	0,2	99,4			100			100
Bacitracin	9,3		90,7	6,2		93,8			100			100
Polymyxin B	4,5		95,5	6,9		93,1			100	98,6		1,4

3.2.3. Empfindlichkeit Antibiotika-resistenter Staphylokokken unterschiedlicher Herkunft gegenüber Metallionen.

Bei einer Gegentestung zumindest einem Antibiotikum oder auch mehreren Antibiotika gleichzeitig gegenüber resistenten Staphylokokken unterschiedlicher Herkunft hinsichtlich ihres Verhaltens gegenüber Metallionen waren Unterschiede zwischen Staphylococcus aureus des Menschen einerseits, und Staphylokokken tierischer Herkunft andererseits,feststellbar. Sämtliche Isolate von Staphylococcus aureus erwiesen sich als Blei-resistent und zwar gegenüber der höchsten Konzentration von 1060 µg/ml. Gegenüber 130 µg/ml hatten sich alle getesteten Isolate als unempfindlich erwiesen, so daß bei weiteren Untersuchungen diese niedrige Konzentration nicht mehr mitgeprüft wurde. Die zu 100 Prozent Blei-resistenten Staphylococcus aureus-Isolate des Menschen waren stattdessen weniger Arsen-resistent.

Es bestand kein Unterschied zwischen drei- und fünf-wertigem Arsen, weshalb die Ergebnisse nur von As^{3+} in der Tabelle 29 aufgeführt sind. Bei den Isolaten tierischer Herkunft war eine Resistenz gegenüber Arsen am häufigsten anzutreffen. Wenn zur Anzucht der Staphylokokken ein Metallion als Selektor Verwendung gefunden hatte, erwiesen sich die Isolate gleichzeitig auch häufiger resistent gegenüber Blei und Quecksilber, als wenn das nicht zutraf (Tabelle 29).

Relativ häufig wurde bei Staphylococcus aureus auch eine Resistenz gegenüber Cadmium, Zink und Quecksilber nachgewiesen. Demzufolge waren die einzelnen Isolate auch häufiger mehrfachresistent gegenüber den geprüften Metallionen (Tabelle 30). Fünffachresistenz gegenüber Metallionen war überhaupt nur bei Isolaten von Staphylococcus aureus des Menschen nachweisbar.

Tab. 29: Häufigkeit des Nachweises von Metallionenresistenz bei Staphylokokken tierischer Herkunft sowie bei Staphylococcus aureus des Menschen.

Metallion	Herkunft und jeweilige Anzahl der Isolate				
resistent *	Schwein A**	Schwein B	Broiler	Hund	Mensch
Pb^{2+}	35	6	7	18	27
Hg^{2+}	15	3	6	8	7
Cd^{2+}	0	1	1	4	18
Zn^{2+}	1	0	1	1	10
As^{3+}	71	31	46	30	16
sensibel	3	2	0	3	0
insges. geprüft	74	35	49	34	27

* = Konzentrationen s. 3.1.
** = mit Metallionen vorselektiert.

118 von 219 insgesamt geprüften Isolaten waren überhaupt nur einem der geprüften Metallionen gegenüber resistent. Dies traf insbesondere für die Resistenz gegenüber Arsen zu, wenn die Isolate tierischer Herkunft waren (Tabelle 30).
Isolate vom Menschen sprachen, wenn nur einem Metallion gegenüber unempfindlich, stattdessen auf Blei nicht an. Die Arsenresistenz war bei Staphylococcus aureus des Menschen nur in Vergesellschaftung mit Resistenz gegenüber anderen Metallionen anzutreffen, und zwar außer mit Blei, mit Quecksilber, Cadmium und Zink.

Tab. 30: Häufigkeit bestimmter Merkmalskombinationen betreffend die Mehrfachresistenz gegenüber Metallionen bei Staphylokokken tierischer Herkunft sowie von Staphylococcus aureus des Menschen.

gegenüber den geprüften Metallionen** resistent	Herkunft und jeweilige Anzahl der Isolate					Σ
	Schwein A*	Schwein B	Broiler	Hund	Mensch	
5-fach:						
Hg^{2+},Pb^{2+},Cd^{2+},Zn^{2+},As^{3+}	0	0	0	0	7	7
4-Fach:						
Hg^{2+},Pb^{2+},Zn^{2+},As^{3+}	0	0	1	0	0	1
Pb^{2+},Cd^{2+},Zn^{2+},As^{3+}	0	0	0	1	3	4
3-fach:						
Pb^{2+},Cd^{2+},As^{3+}	0	0	0	2	5	7
Pb^{2+},Hg^{2+},As^{3+}	15	1	2	4	0	22
2-fach:						
Pb^{2+},As^{3+}	20	1	4	10	1	36
Zn^{2+},As^{3+}	1	0	0	0	0	1
Hg^{2+},As^{3+}	0	1	3	4	0	8
Cd^{2+},As^{3+}	0	1	1	1	0	3
Pb^{2+},Hg^{2+}	0	1	0	0	0	1
Pb^{2+},Cd^{2+}	0	0	0	0	3	3
1-fach:						
Pb^{2+}	0	1	0	1	8	10
As^{3+}	35	27	38	8	0	108
sensibel	3	2	0	3	0	8
insgesamt	74	35	49	34	27	219

* = mit Metallionen vorselektiert; ** = Konzentrationen s. 3.1.

Wenn eine Anzucht ohne Selektor im Medium erfolgt war, erwiesen sich die Isolate vom Schwein fast ausschließlich einfachresistent, mit Selektor dagegen fast zur Hälfte auch zwei- und dreifachresistent, betreffend aber außer Arsen nur noch Blei, Quecksilber und Zink. Resistenzbilder mit Cadmium wurden vor allem bei Staphylokokken vom Hund nachgewiesen. Der Hund erwies sich damit allgemein als höher gegenüber Metallionen mehrfachresistent als die Isolate von den landwirtschaftlichen Nutztieren, wenn auch die Resistenzbilder als solche nur ausnahmsweise denen der Isolate von Staphylococcus aureus des Menschen entsprachen (Tabelle 30).
Bei Berücksichtigung von acht der wichtigsten Antibiotika, gegenüber denen die geprüften Staphylokokken sich mehr oder weniger als resistent erwiesen haben, zeigte sich, daß gegenüber Arsen-resistente Staphylokokken vom Schwein größtenteils zugleich Makrolid/Lincosamin (Mac)-resistent waren, daneben kam noch Chloramphenicol- und Streptomycinresistenz häufig, seltener Tetracyclinresistenz vor. Nur wenn die Isolate mit Selektor angezüchtet worden waren, konnte neben der Blei- und Quecksilber-, häufiger auch eine Tetracyclinresistenz angetroffen werden, und die Isolate erwiesen sich verschiedentlich auch als Penicillin G-resistent (Tabelle 31 bis 35). Darin bestand Ähnlichkeit mit dem Verhalten der Isolate vom Broiler (Tabelle 33). Die Arsen- und Blei-resistenten Staphylokokken vom Hund sprachen stattdessen größtenteils auf die acht in die Betrachtung einbezogenen Antibiotika an (Tabelle 34).
Bei Vorliegen einer Resistenz gegenüber Metallionen waren die Staphylokokken, wie die Isolate vom landwirtschaftlichen Nutztier, hauptsächlich

gegenüber Makroliden/Lincosaminen (Mac), Chloramphenicol, Streptomycin und Tetracyclin resistent und verhielten sich wie diese Vertreter auch gegenüber Novobiocin als unempfindlich (Tabelle 31 bis 34).

Die Isolate von Staphylococcus aureus dagegen waren fast nur Erythromycin-resistent und sprachen hauptsächlich nicht auf Penicillin G an (Tabelle 35).

Tab. 31: Jeweilige Anzahl von Staphylokokken-Isolaten mit Metallionen- und Antibiotika-Resistenz, bzw. Empfindlichkeit vom Schwein.

(Anzucht ohne Selektor)

Metallionen* resistent	Resistenzverhalten gegenüber Antibiotika										in toto
		E	L	C	T	P	S	VI	NV	sensibel	
Pb^{2+}	6	6	6	1	3	0	3	0	1	0	
Hg^{2+}	3	3	3	1	0	0	1	0	0	0	
Cd^{2+}	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	35
Zn^{2+}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
As^{3+}	31	26	26	12	5	1	11	0	11	2	
sensibel	2	2	2	1	0	0	1	0	1	0	

* = Konzentrationen s. 3.1.

Tab. 32: Jeweilige Anzahl von Staphylokokken-Isolaten mit Metallionen- und Antibiotikaresistenz bzw. Empfindlichkeit vom Schwein (Anzucht mit Selektor)

Metallionen* resistent	Resistenzverhalten gegenüber Antibiotika									in toto
	E	L	C	T	P	S	VI	NV	sensibel	
Pb^{2+}	35	29	28	22	27	11	27	0	29	1	
Hg^{2+}	15	13	13	11	11	2	8	0	11	1	
Cd^{2+}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	74
Zn^{2+}	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	
As^{3+}	71	58	58	55	61	13	54	0	58	1	
sensibel	3	3	3	2	1	0	0	0	2	0	

* = Konzentrationen s. 3.1.

Tab. 33: Jeweilige Anzahl von Staphylokokken-Isolaten mit Metallionen- und Antibiotikaresistenz bzw. Empfindlichkeit vom Broiler

Metallionen* resistent	Resistenzverhalten gegenüber Antibiotika									in toto
	E	L	C	T	P	S	VI	NV	sensibel	
Pb^{2+}	7	5	5	4	2	1	3	0	1	0	
Hg^{2+}	6	3	6	2	1	0	2	0	2	0	
Cd^{2+}	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	49
Zn^{2+}	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	
As^{3+}	46	32	28	17	4	8	12	0	14	5	
sensibel	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

* = Konzentrationen s. 3.1.

Tab. 34: Jeweilige Anzahl von Staphylokokken-Isolaten mit Metallionen- und Antibiotikaresistenz bzw. Empfindlichkeit vom Hund.

Metallionen* resistent	Resistenzverhalten gegenüber Antibiotika										in toto
		E	L	C	T	P	S	VI	NV	sensibel	
Pb^{2+}	18	1	2	1	1	0	1	0	0	15	
Hg^{2+}	8	1	1	1	0	0	1	0	1	5	
Cd^{2+}	4	1	1	0	0	0	0	0	0	2	34
Zn^{2+}	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
As^{3+}	30	2	3	2	2	0	2	0	3	20	
sensibel	3	0	0	0	1	0	0	0	0	2	

* = Konzentrationen s. 3.1.

Tab. 35: Jeweilige Anzahl von Staphylococcus aureus-Isolaten mit Metallionen- und Antibiotikaresistenz bzw. Empfindlichkeit vom Menschen.

Metallionen * resistent	Resistenzverhalten gegenüber Antibiotika										in toto
		E	L	C	T	P	S	VI	NV	sensibel	
Pb^{2+}	27	6	1	3	8	21	10	0	0	0	
Hg^{2+}	7	4	0	2	5	4	7	0	0	0	
Cd^{2+}	18	5	0	3	7	12	9	0	0	0	27
Zn^{2+}	10	5	0	2	6	7	9	0	0	0	
As^{3+}	16	4	1	2	5	8	7	0	0	0	
sensibel	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

* = Konzentrationen s. 3.1.

Wenn eine ergänzende Testung von Staphylokokken der Faecalflora von Schweinen gegenüber abgestuften Konzentrationen von Zink und Kupfer, deren Salze insbesondere bei dieser Tierart nutritiv als Spurenelementverbindung oder als Wachstumsförderer eingesetzt werden (SIEBERT, 1982), geprüft wurden, zeigte sich, daß die höher mehrfach gegenüber Antibiotika resistenten Vertreter zugleich auch häufiger höhere Konzentrationen der Metallionen tolerierten (Tabelle 36). Cadmiumresistenz wurde relativ selten bei diesen Staphylokokken nachgewiesen. Wenn sie vier- und fünffach Antibiotika-resistent waren, zeigten sie auch häufiger Resistenz gegenüber Arsen, als wenn sie nur zwei- und dreifach Resistenz gegenüber Antibiotika aufgewiesen hatten.

Folglich ist in Gegenwart von Zink-Konzentrationen oberhalb von 50 ppm und von Kupfer von 120 ppm im Tierfutter mit einer Selektion dieser Keime zu rechnen und jede Anwendung von Futterarzneimitteln selektiert ihrerseits für Metallionenresistenz, betreffend außer Arsen, Zink und Kupfer auch Blei und Quecksilber. Bei Verabreichung von Natrium-arsanilat mit dem Trinkwasser ist desgleichen damit zu rechnen, da bei Staphylokokken eine Resistenz gegenüber Arsenit zugleich auch Unempfindlichkeit gegenüber Arsenat bedeutet, wie bei den vorange-gangenen Testen mit drei- und fünfwertigem Arsen festgestellt werden konnte.

Tab. 36: Ansprechbarkeit von Staphylokokken aus der Faecalflora von Schweinen gegenüber Antibiotika und Metallionen. Ergänzende Testung von abgestuften Konzentrationen der Zn^{2+} und Cu^{2+} enthaltenden Salze.

Antibiotika-resistenz	n	Resistenzbilder								Vorliegen von Novobiocin-resistenz		jeweilige Anzahl der Isolate minimale Hemmkonzentrationen(µg/ml)								
		Mac	E	L	C	T	P	S	VI	+	-	Zn^{2+} 100	Zn^{2+} 50	Zn^{2+} 25	Cu^{2+} 200	Cu^{2+} 180	Cu^{2+} 120	Cu^{2+} 60	Cd^{2+} 200	As^{3+} 150
5-fach (10,1%)	21	Mac			C	T	P	S		17	4	-	-	-	4	2	5	5	-	5
4-fach (43,3%)	79	Mac			C	T		S		73	6	1	3	5	6	9	19	19	1	16
	4	Mac				T	P	S		4	-	-	-	-	-	1	1	1	-	1
	4	Mac				T	P		VI	4	-	-	-	-	-	1	1	1	1	-
	3	Mac			C	T	P			3	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1
3-fach (25,0%)	20	Mac			C	T				20	-	4	5	7	2	-	1	1	-	-
	22	Mac				T		S		13	9	4	5	6	-	1	2	2	-	2
	2	Mac			C			S		2	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-
	1				C	T		S		1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	4	Mac				T	P			4	-	-	-	-	-	1	1	1	-	1
	2			L	C	T				-	2	-	-	-	-	-	1	1	-	-
	1				C	T	P			-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
2fach (15,4%)	3					T		S		3	-	1	-	2	-	-	-	-	-	-
	8				C	T				5	3	1	1	3	-	-	1	1	-	1
	5	Mac						S		5	-	-	-	1	-	1	1	1	-	1
	5	Mac			C					5	-	-	-	1	-	1	1	1	-	1
	1				C			S		1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	9	Mac				T				5	4	-	-	-	-	2	2	2	1	2
	1		E					S		1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
1-fach (5,8%)	3							S		3	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-
	3				C					1	2	-	1	2	-	-	-	-	-	-
	6					T				5	1	-	-	-	1	1	1	1	-	-
sensibel (o,5%)	1									1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
in toto:	208									176	32	11	17	35	14	20	38	38	3	32

3.2.4. Untersuchungen zur Persistenz von Eigenschaften der Chemoresistenz bei Staphylococcus aureus des Menschen und bei Staphylokokken von Tieren.

Insofern die Resistenz gegenüber einem chemischen Stoff bei einem Bakterium Plasmid-codiert ist, handelt es sich um eine instabile Eigenschaft. Das heißt, die Eigenschaft der Resistenz gegenüber Antibiotika sowie gegenüber Metallionen kann bei einem Bakterium, welches ein solches Merkmal gezeigt hat, jederzeit verloren gehen. Dieser Verlust kann spontan eintreten,oder auch durch bestimmte, als "Curing-agents" beschriebene Stoffe im Medium hervorgerufen sein. Beide Vorgänge wurden an 21 Isolaten der hinsichtlich Antibiotika- und Metallionen-Resistenz überprüften Staphylokokken unterschiedlicher Herkunft studiert. Für diese Untersuchungen wurden nur solche Isolate ausgewählt, die Resistenz gegenüber Antibiotika und Metallionen gezeigt hatten, von denen nach dem Schrifttum angenommen werden kann, daß es sich dabei um auf das Vorhandensein von Plasmiden zurückzuführende Eigenschaften handelte.
Da sich die acht von Staphylococcus aureus ausgewählten Isolate in den überprüften Merkmalen der Resistenz gegenüber Erythromycin, Penicillin G, Tetracyclin, Chloramphenicol, Streptomycin und Kanamycin sowie Blei, Quecksilber, Cadmium und Arsen weitgehend stabil erwiesen haben, wurde die Überprüfung bereits nach der zehnten Passage abgebrochen. Verschiedentlich erwiesen sich die Keime gegenüber Carbadox und Dimethylsulfoxid (DMSO) derart hoch empfindlich, so daß diese "Curing agents" hinsichtlich ihrer Plasmid-eliminierenden Wirkung nicht überprüft werden konnten.

Anders verhielt es sich dagegen mit den weiteren 13 Isolaten von Kalb und Schwein, die in diese Prüfungen einbezogen worden waren. Diese Isolate wurden auch fünf Curing-Stoffen gegenüber exponiert, aber hinsichtlich ihres Verhaltens bis zur 15. Passage verfolgt; die Zahl der überprüften Merkmale war allerdings bei diesen Staphylokokken-Isolaten geringer und betraf im Wesentlichen die Resistenz gegenüber Erythromycin, Tetracyclin, Chloramphenicol, Streptomycin sowie Kanamycin und in geringem Umfang die Resistenz gegenüber Quecksilber und Arsen. Nähere Einzelheiten enthalten die Tabellen 37 bis 53, die auch über die jeweilige Zahl überprüfter Einzelkolonien Auskunft geben, sowie die Abbildungen 10 a und b.
Bei den Staphylococcus aureus-Isolaten war weder ein Spontanverlust noch ein induzierbarer Verlust zu verzeichnen, wenn die Resistenzeigenschaften betreffend die Antibiotika Erythromycin, Chloramphenicol, Streptomycin und Kanamycin sowie die Metallionen Blei und Arsen überprüft worden waren. In Gegenwart von Akridinorange waren geringe Verlustraten zu verzeichnen hinsichtlich der Resistenz gegenüber Penicillin, Tetracyclin, Quecksilber und Cadmium. Allerdings waren die Quoten des Auftretens empfindlicher Varianten mit Werten von $\leq$1-5% nicht sehr hoch. Da sie erst nach der 10. Passage zu verzeichnen waren, kann es sich ebenso auch um einen Selektionseffekt bezüglich Mutanten gehandelt haben. Der Nachweis von Minusvarianten betraf 3 der 8 überprüften Staphylococcus aureus-Isolate.
Ein Verlust der Tetracyclinresistenz trat bei einem Isolat nicht nur bei Zusatz von Akridinorange auf, sondern auch mit Aflatoxin B_1 (10μg/ml). Beim zweiten Isolat handelte es sich um die Cadmium-

resistenz, wo die gleichen Stoffe eine geringe Zahl von Minusvarianten ergaben. Bei diesem Isolat waren Verluste durch Akridinorange zu verzeichnen betreffend die Tetracyclin-, Penicillin- und Quecksilberresistenz.

Bei der Überprüfung der Isolate von Kalb und Schwein wurden von Staphylococcus aureus abweichende Ergebnisse erzielt (Tabelle 47-53). Als weitgehend stabil zeigte sich die Resistenz gegenüber Erythromycin, Chloramphenicol, Streptomycin und Arsen (Tabelle 47, 49, 50, 53). Hinsichtlich dieser Resistenzeigenschaften wurde auch die geringste Varianz bei den insgesamt 805 von Kalb und Schwein geprüften Isolaten nachgewiesen (s. 3.2.1.).

Am wenigsten stabil war das Merkmal der Resistenz gegenüber Tetracyclin und in gewissem Grade auch die Unempfindlichkeit gegenüber Kanamycin und Quecksilber. Die induzierten Verluste waren im Vergleich zu den Spontanverlusten in Gegenwart von Akridinorange betreffend die Merkmale Tetracyclin-, Kanamycin- und Quecksilberresistenz in der Regel höher. In Gegenwart von Novobiocin verloren Staphylokokken, häufiger als dies spontan der Fall war, die Eigenschaft der Resistenz gegenüber Tetracyclin, Tetracyclin und Kanamycin, Tetracyclin, Kanamycin und Chloramphenicol sowie Tetracyclin und Quecksilber. Schließlich lagen die Quoten für induzierte Verluste in Gegenwart von Carbadox betreffend die Resistenz gegenüber Tetracyclin, Kanamycin und Chloramphenicol sowie Quecksilber höher als die festgestellten Spontanverluste (Tabelle 47 bis 52). Die Beobachtungen betreffend die Erythromycinresistenz mit Verlusten erst nach der 15. Passage sprachen stattdessen für Selektionseffekte.

Tab. 37: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylococcus aureus des Menschen mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

1. Merkmal: Erythromycinresistenz

Curingstoff **	Passagen	untersuchte Einzelkolonien mit Zusatz	ohne Zusatz*	negative Varianten mit Zusatz	ohne Zusatz*
Akridinorange	1	608	651	0	0
	10	664	670	0	0
DMSO	1	616	651	0	0
	10	676	670	0	0
SDS	1	599	651	0	0
	10	674	670	0	0
Carbadox	1	169	164	0	0
	10	172	176	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	565	651	0	0
	10	679	670	0	0
in toto:		5422	5636	0	0

Zeichenerklärung für die Tabellen 37 bis 53:
* = Kontrolle
** = Konzentrationsangaben s. 3.1.2. (Tab. 12)

Tab. 38: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylococcus aureus des Menschen mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

2. Merkmal: Penicillinresistenz

Curingstoff**	Passagen	untersuchte Einzelkolonien		negative Varianten	
		mit Zusatz	ohne Zusatz*	mit Zusatz	ohne Zusatz*
Akridinorange	1	922	943	0	0
	10	993	1135	24	1
DMSO	1	953	943	0	0
	10	1024	1026	0	0
SDS	1	947	943	0	0
	10	1020	1026	0	0
Carbadox	1	344	349	0	0
	10	337	347	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	837	943	0	0
	10	1028	1026	0	0
in toto:		8405	8681	24	1

Tab. 39: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylococcus aureus des Menschen mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

3. Merkmal: Tetracyclinresistenz

Curingstoff**	Passagen	untersuchte Einzelkolonien mit Zusatz	untersuchte Einzelkolonien ohne Zusatz*	negative Varianten mit Zusatz	negative Varianten ohne Zusatz*
Akridinorange	1	773	814	0	0
	10	934	951	11	0
DMSO	1	779	814	0	0
	10	852	842	0	0
SDS	1	767	814	0	0
	10	849	842	0	0
Carbadox	1	169	174	0	0
	10	172	176	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	692	814	1	0
	10	848	842	0	0
in toto:		6835	7083	12	0

Tab. 40: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylococcus aureus des Menschen mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

4. Merkmal: Chloramphenicolresistenz

Curingstoff**	Passagen	untersuchte Einzelkolonien		negative Varianten	
		mit Zusatz	ohne Zusatz*	mit Zusatz	ohne Zusatz*
Akridinorange	1	165	163	0	0
	10	170	172	0	0
DMSO	1	163	163	0	0
	10	176	172	0	0
SDS	1	168	163	0	0
	10	175	172	0	0
Carbadox	1	169	174	0	0
	10	172	176	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	155	174	0	0
	10	173	176	0	0
in toto:		1686	1705	0	0

Tab. 41: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylococcus aureus des Menschen mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

5. Merkmal: Streptomycinresistenz

Curingstoff**	Passagen	untersuchte Einzelkolonien mit Zusatz	ohne Zusatz*	negative Varianten mit Zusatz	ohne Zusatz*
Akridinorange	1	608	651	0	0
	10	764	779	0	0
DMSO	1	616	651	0	0
	10	676	670	0	0
SDS	1	599	651	0	0
	10	674	670	0	0
Carbadox	1	169	174	0	0
	10	172	176	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	565	651	0	0
	10	679	670	0	0
in toto:		5522	5743	0	0

Tab. 42: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylococcus aureus des Menschen mit und ohne Zusatz Plasmid- eliminierender Stoffe

6. Merkmal: Kanamycinresistenz

Curingstoff**	Passagen	untersuchte Einzelkolonien mit Zusatz	untersuchte Einzelkolonien ohne Zusatz *	negative Varianten mit Zusatz	negative Varianten ohne Zusatz *
Akridinorange	1	722	771	0	0
"	10	806	834	0	0
DMSO	1	772	771	0	0
	10	849	834	0	0
SDS	1	758	771	0	0
	10	838	834	0	0
Carbadox	1	175	175	0	0
	10	165	171	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	697	771	0	0
	10	845	834	0	0
in toto:		6627	6766	0	0

Tab. 43: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylococcus aureus des Menschen mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

7. Merkmal: Bleiresistenz

Curingstoff **	Passagen	untersuchte Einzelkolonien		negative Varianten	
		mit Zusatz	ohne Zusatz *	mit Zusatz	ohne Zusatz *
Akridinorange	1	897	989	0	0
	10	999	1013	0	0
DMSO	1	947	989	0	0
	10	1029	1013	0	0
SDS	1	920	989	0	0
	10	1025	1013	0	0
Carbadox	1	344	349	0	0
	10	337	347	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	857	989	0	0
	10	1015	1013	0	0
in toto:		8370	8704	0	0

Tab. 44: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylococcus aureus des Menschen mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

8. Merkmal: Quecksilberresistenz

Curingstoff **	Passagen	untersuchte Einzelkolonien		negative Varianten	
		mit Zusatz	ohne Zusatz*	mit Zusatz	ohne Zusatz*
Akridinorange	1	282	3o3	0	0
	10	419	433	20	1
DMSO	1	296	303	0	0
	10	337	.324	0	0
SDS	1	278	3o3	0	0
	10	325	324	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	720	303	0	0
	10	335	324	0	0
in toto:		2542	2617	20	1

Tab. 45: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylococcus aureus des Menschen mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

9. Merkmal: Cadmiumresistenz

Curingstoff **	Passagen	untersuchte Einzelkolonien		negative Varianten	
		mit Zusatz	ohne Zusatz *	mit Zusatz	ohne Zusatz *
Akridinorange	1	560	652	0	0
	10	653	665	4	0
DMSO	1	613	652	0	0
	10	687	665	0	0
SDS	1	589	652	0	0
	10	676	665	0	0
Carbadox	1	175	175	0	0
	10	165	171	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	575	652	0	0
	10	673	665	3	0
in toto:		5366	5614	7	0

Tab. 46: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylococcus aureus des Menschen mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

10. Merkmal: Arsenresistenz

Curingstoff**	Passagen	untersuchte Einzelkolonien		negative Varianten	
		mit Zusatz	ohne Zusatz*	mit Zusatz	ohne Zusatz*
Akridinorange	1	608	651	0	0
	10	664	670	0	0
DMSO	1	616	651	0	0
	10	676	670	0	0
SDS	1	599	651	0	0
	10	674	670	0	0
Carbadox	1	169	174	0	0
	10	172	176	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	565	651	0	0
	10	671	670	0	0
in toto:		5414	5634	0	0

Tab. 47: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylokokken von Kalb und Schwein mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

1. Merkmal: Erythromycinresistenz

Curingstoff **	Passagen	untersuchte Einzelkolonien		negative Varianten	
		mit Zusatz	ohne Zusatz *	mit Zusatz	ohne Zusatz *
Akridinorange	1	977	910	0	1
	10	537	450	0	0
	15	1046	1024	125	118
Novobiocin	1	793	800	0	0
	10	393	450	4	0
	15	929	906	23	0
Carbadox	1	418	491	0	1
	10	218	141	0	0
	15	780	733	106	118
DMSO	1	101	74	0	0
	10	141	141	0	1
	15	260	278	0	0
AFB_1 (1 µg/ml)	1	97	74	0	0
	10	271	141	0	0
	15	333	278	0	0
AFB_1 (5 µg/ml)	1	766	836	0	1
	10				
	15	476	455	0	118
AFB_1 (10 µg/ml)	1	201	493	0	0
	10	261	141	0	0
	15	319	278	0	0
in toto :		9371	9094	258	358

Tab. 48: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylokokken von Kalb und Schwein mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

2. Merkmal: Tetracyclinresistenz

Curingstoff **	Passagen	untersuchte Einzelkolonien mit Zusatz	untersuchte Einzelkolonien ohne Zusatz *	negative Varianten mit Zusatz	negative Varianten ohne Zusatz *
Akridinorange	1	962	1101	22	33
	10	522	470	245	302
	15	827	949	383	842
Novobiocin	1	818	991	23	33
	10	526	570	451	303
	15	834	831	464	717
Carbadox	1	402	682	9	29
	10	226	273	214	253
	15	810	773	646	682
DMSO	1	98	276	6	9
	10	235	273	207	253
	15	481	318	481	318
AFB_1 (1 µg/ml)	1	95	265	3	11
	10	268	273	102	253
	15	275	318	256	318
AFB_1 (5 µg/ml)	1	766	836	15	22
	10				
	15	476	455	195	364
AFB_1 (10 µg/ml)	1	104	684	7	15
	10	401	273	273	253
	15	316	318	307	318
in toto:		9442	10929	43o9	5328

Tab. 49: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylokokken von Kalb und Schwein mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

3. Merkmal: Chloramphenicolresistenz

Curingstoff**	Passagen	untersuchte Einzelkolonien		negative Varianten	
		mit Zusatz	ohne Zusatz*	mit Zusatz	ohne Zusatz*
Akridinorange	1	985	932	0	0
	10	552	569	0	1
	15	1046	907	12	0
Novobiocin	1	793	822	1	0
	10	477	569	2	1
	15	947	904	5	1
Carbadox	1	403	513	4	0
	10	170	260	1	0
	15	789	731	6	1
DMSO	1	96	96	0	0
	10	237	260	0	0
	15	330	276	14	1
AFB_1 (1 µg/ml)	1	106	96	0	0
	10	271	260	0	0
	15	304	276	3	1
AFB_1 (5 µg/ml)	1	408	417	0	0
	10				
	15	476	455	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	200	515	0	0
	10	252	260	0	0
	15	326	276	4	1
in toto:		9168	9394	52	7

Tab. 50: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylokokken von Kalb und Schwein mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

4. Merkmal: Streptomycinresistenz

Curingstoff **	Passagen	untersuchte Einzelkolonien mit Zusatz	ohne Zusatz *	negative Varianten mit Zusatz	ohne Zusatz *
Akridinorange	1	892	840	0	0
	10	590	568	1	0
	15	933	909	0	0
Novobiocin	1	698	730	0	0
	10	436	568	4	0
	15	819	791	3	0
Carbadox	1	356	421	0	0
	10	251	259	0	0
	15	584	618	0	0
DMSO	1	115	115	0	0
	10	275	259	0	0
	15	279	260	0	0
AFB_1 (1µg/ml)	1	112	115	0	0
	10	311	259	0	0
	15	241	260	0	0
AFB_1 (5µg/ml)	1	656	725	0	0
	10				
	15	350	358	0	0
AFB_1 (10 µg/ml)	1	212	534	0	0
	10	303	259	0	0
	15	273	260	0	0
in toto:		8686	9108	8	0

Tab. 51: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylokokken von Kalb und Schwein mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

5. Merkmal: Kanamycinresistenz

Curingstoff **	Passagen	untersuchte Einzelkolonien mit Zusatz	ohne Zusatz *	negative Varianten mit Zusatz	ohne Zusatz *
Akridinorange	1	974	933	21	12
	10	138	137	0	0
	15	786	779	12	14
Novobiocin	1	815	823	22	15
	10	391	133	0	0
	15	557	661	0	14
Carbadox	1	428	514	39	4
	10	199	133	0	0
	15	798	779	3	14
DMSO	1	82	97	0	0
	10	236	133	4	0
	15	301	324	0	0
AFB_1 (1 µg/ml)	1	92	97	0	0
	10	374	133	3	0
	15	325	324	0	0
AFB_1 (5 µg/ml)	1	766	836	18	8
	10				
	15	476	455	0	14
AFB_1 (10 µg/ml)	1	203	516	1	8
	10	415	133	20	0
	15	319	324	0	0
in toto:		8675	8264	143	103

Tab. 52: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylokokken von Kalb und Schwein mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

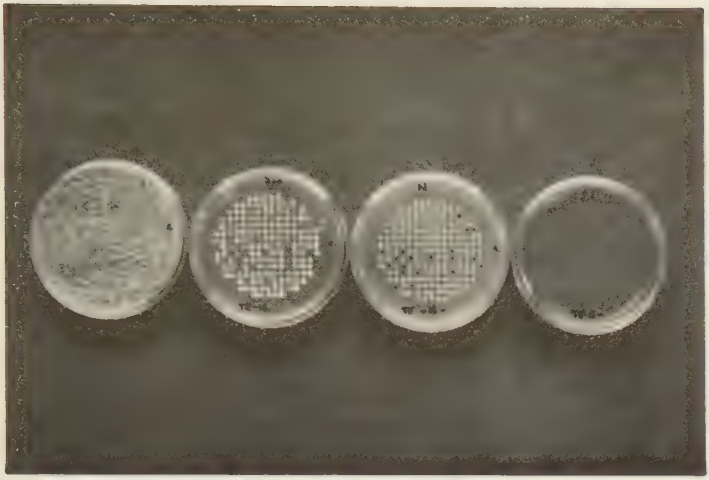
6. Merkmal: Quecksilberresistenz

Curingstoff**	Passagen	untersuchte Einzelkolonien		negative Varianten	
		mit Zusatz	ohne Zusatz*	mit Zusatz	ohne Zusatz*
Akridinorange	1	110	92	6	4
	10				
	15	116	124	4	4
Novobiocin	1	109	92	13	4
	10				
	15	134	124	0	4
Carbadox	1	103	92	7	4
	10				
	15	110	124	0	4
AFB_1 (5 µg/ml)	1	90	92	0	4
	10				
	15	107	124	0	4
in toto:		879	864	30	32

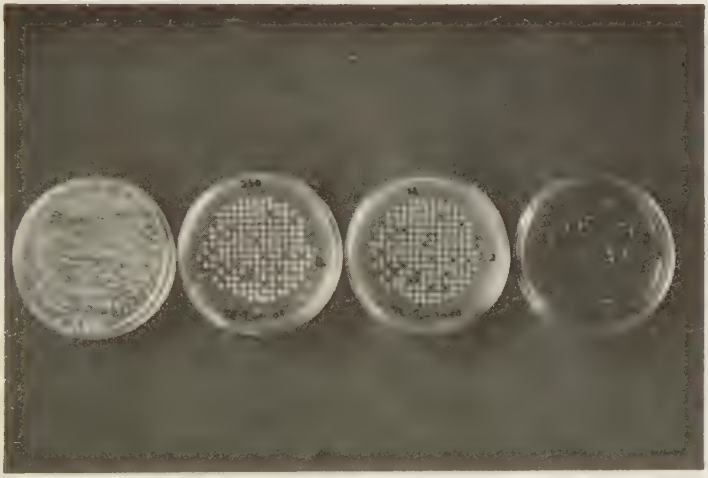
Tab. 53: Auftreten von Merkmalsverlusten bei Staphylokokken von Kalb und Schwein mit und ohne Zusatz Plasmid-eliminierender Stoffe

7. Merkmal: Arsenresistenz

Curingstoff**	Passagen	untersuchte Einzelkolonien		negative Varianten	
		mit Zusatz	ohne Zusatz*	mit Zusatz	ohne Zusatz *
Akridinorange	1				
	10	288	309	0	0
	15	334	291	0	0
Novobiocin	1				
	10	233	309	0	0
	15	326	291	0	0
in toto:		1181	1200	0	0



a) Überprüfung des Spontanverlustes der Tetracyclinresistenz nach 15 Passagen.



b) Überprüfung des Verlustes der Tetracyclinresistenz nach 15 Passagen mit Zusatz von 1µg/ml Aflatoxin B_1 zur Nährbouillon.

Abb. 10: Überprüfung der Persistenz von Resistenzeigenschaften bei Staphylokokken verschiedener Herkunft.

4. DISKUSSION

Die Dominanz im Auftreten von Resistenz gegenüber Makroliden (Erythromycin u.a.), Lincosaminen (Lincomycin), Chloramphenicol, Streptomycin und Tetracyclin bei Staphylokokken des Nasen-Rachen-Raumes und der Faecalflora von Kalb und Schwein, unabhängig davon, ob die Keime mit einem Metallion als Selektor auf Mannit-Kochsalz-Phenolrot-Agar angezüchtet worden waren oder nicht, bestätigt abermals, daß Resistenzdeterminanten gegen die genannten Antibiotika heutzutage diejenigen sind, die im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Menschen und beim Hund, bei Staphylokokken von landwirtschaftlichen Nutztieren am weitesten verbreitet sind.
Insbesondere der konstitutive Makrolid/Lincosamin-Resistenztyp (Mac) ist von GEDEK, 1980; LINCKH, 1980 und GEDEK und LINCKH, 1981, wiederholt bei Staphylokokken von Kalb, Schwein und Huhn nachgewiesen worden. Bei früheren Untersuchungen hatten sich auch die Isolate vom Kalb seltener als Penicillin G-resistent erwiesen, als die vom Schwein, und bei den Isolaten vom Kalb war stattdessen Kanamycinresistenz festgestellt worden (GEDEK, 1980), die auch bei den vorliegenden Untersuchungen wiederum bei Staphylokokken des Kalbes auffielen. Allerdings war sie hierbei auch anzutreffen, wenn die Keime zugleich Makrolid/Lincosamin-resistent waren, was von GEDEK und LINCKH (1981) in Zweifel gezogen worden war.
Dagegen ergab sich im Vorkommen einer höheren Quote an Penicillin G-Resistenz beim Huhn als beim Schwein wiederum eine Parallele zum Ergebnis der Untersuchungen von LINCKH (1980).

Auch stimmten die Resistenzquoten gegenüber den 14 getesteten Antibiotika, die mit Isolaten vom Hund erhalten worden waren, weitgehend mit denen von OBERWALLNER (1982) überein. Hinsichtlich der Resistenzdeterminanten betreffend die Ansprechbarkeit gegenüber Antibiotika, als auch in der Höhe der absoluten Quoten an Resistenz, bestand sehr viel Ähnlichkeit der Isolate vom Hund mit denen des Menschen (PAUL-EHRLICH-Gesellschaft, 1978, 1980, 1982).
Vor allem gegenüber Penicillin G, Streptomycin, Kanamycin, Erythromycin und Tetracyclin resistente Vertreter waren sowohl bei den Staphylokokken vom Hund als auch bei Staphylococcus aureus des Menschen zu finden. Zugleich lag der induzierte Resistenztyp gegenüber Makroliden bei beiden unterschiedlichen Kollektiven vor, und anstelle von Novobiocin-resistenten Staphylokokken erwiesen sich die Isolate vom Hund und vom Menschen als hauptsächlich, oder gar ausschließlich, Novobiocin-empfindlich.
Es ließ sich aus der unterschiedlichen Häufigkeit der nachgewiesenen Resistenzdeterminanten sehr deutlich die Differenz im Einsatz von Antibiotika beim landwirtschaftlichen Nutztier, beim Hund und beim Menschen herauslesen. Die Tatsache, daß sich die Isolate vom Schwein bis zu elffach-resistent, die Isolate vom Kalb dagegen nur maximal achtfach gegenüber Antibiotika als resistent erwiesen haben, kann darauf zurückzuführen sein, daß beim Schwein der Einsatz an Stoffen als Chemotherapeutika und Wachstumsförderer größer ist als beim Kalb (SIEBERT, 1982).

Auf die Verwendung von Arsen-haltigen Verbindungen beim Nutztier ist es möglicherweise auch zurückzuführen, daß sich die Staphylokokken tierischer Herkunft hauptsächlich gegenüber As^{3+} und As^{5+} als resistent erwiesen haben.
Das Auftreten hoch Kupfer-resistenter und Zink-resistenter Staphylokokken beim Schwein kann ebenfalls mit dem Einsatz von Kupfersalzen bis zu 200 ppm und Zinkbacitracin bis 100 ppm im Zusammenhang stehen (GEDEK, 1981 b). Beim Vorkommen der Resistenz gegenüber Metallionen und gegenüber Antibiotika muß, wie bei E. coli, auch bei Staphylokokken damit gerechnet werden, daß bei Vorliegen einer Metallionenresistenz zugleich die Resistenzeigenschaften gegenüber Antibiotika mit selektiert werden und umgekehrt (SIEBERT, 1982). Nur ausnahmsweise waren die Isolate gegenüber den geprüften Metallionen und Antibiotika empfindlich, weshalb jede erneute Anwendung eines chemischen Stoffes (Antibiotikum oder Metallionenverbindung) eine Selektion von Keimen mit einer oder mehreren Resistenzdeterminanten zur Folge hat, es sei denn, die Eigenschaft ist Plasmid-codiert und daher wenig stabil.
Da nahezu alle Versuche,durch Behandlung mit sog. Curingstoffen und durch häufige Passagen, induzierte oder spontane Verluste an Resistenzdeterminanten zu erzielen, bei Staphylococcus aureus fehlschlugen, ist anzunehmen, daß bei dieser Staphylokokken-Art die Resistenz gegenüber Erythromycin, Penicillin G, Streptomycin, Kanamycin, Chloramphenicol und Tetracyclin, sowie gegenüber Blei, Quecksilber, Cadmium und Arsen zum festen Bestandteil der

Bakterienzelle geworden ist, d.h., daß die Resistenzdeterminanten sich nicht auf Plasmiden befinden, sondern in das Chromosom integriert worden sind. Deshalb ist es möglicherweise auch anderen Untersuchern teilweise nicht gelungen, bei Staphylococcus aureus eine Änderung in den Resistenzeigenschaften herbeizuführen. Als besonders stabile Eigenschaft wird die Resistenz gegenüber Erythromycin herausgestellt (BOUCHANAUD et al., 1969; BAN et al., 1976). Dagegen wird über Verluste betreffend die Resistenz gegenüber Penicillin G, Tetracyclin, Chloramphenicol, Kanamycin und Makrolide berichtet (NOVICK, 1969; SCHINDLER, 1972; SONSTEIN und BALDWIN, 1972; ROSENDORF und KAYSER, 1974; LACEY, 1975, HAHN, 1976b; KAYSER et al., 1976), was möglicherweise aber eher andere Arten als Staphylococcus aureus betrifft. Auch soll Resistenz gegenüber Quecksilber, Cadmium und Zink bei Staphylokokken keine stabile Eigenschaft sein (BOUCHANAUD et al., 1969; SONSTEIN und BALDWIN, 1972). Nach LACEY (1975) gibt es keine Substanz, die bei Staphylococcus aureus alle Plasmide eliminiert, vor allem die Tetracyclinresistenz sei ein sehr stabiles Merkmal. Die Frequenz eines Verlustes sei oftmals sehr gering (ZUEVA et al., 1976) und verschiedentlich handelt es sich lediglich um Selektion von Mutanten durch den Curingstoff (KAYSER et al., 1972).
Da mit den Staphylokokken von Kalb und Schwein Verluste an Resistenz gegenüber Antibiotika bereits nach einer Passage mit einem Curingstoff zu verzeichnen waren, spricht das dafür, daß bei diesen Keimen die Eigenschaften, im Gegensatz zu Staphylococcus aureus des Menschen, Plasmid-codiert sind.

Bei einer Passage scheiden Selektionseffekte aus. Die Beobachtung von Spontanverlusten,betreffend vor allem die Resistenz gegenüber Tetracyclin, liefert die Erklärung dafür, daß die Resistenz gegenüber diesem Antibiotikum sehr variiert. Stämme erwiesen sich häufig nur MacCS-,aber nicht MacSCT-resistent. Das gleichzeitige Fehlen einer Chloramphenicol-resistenz bei Vorliegen einer Makrolid/Lincosamin- und Streptomycinresistenz, sowie auch einer Kanamycinresistenz, kann auch darauf zurückzuführen sein, daß durch die Anwendung von Carbadox beim Schwein, bei Staphylokokken, entsprechend der Beobachtung bei E. coli (GEDEK, 1981 a, 1981 c), ein Verlust an R-Faktoren eintritt, wodurch die Abweichungen in den Resistenzbildern von Kalb und Schwein zu erklären sind.
Da die Mac-Resistenz, sowie die Arsenresistenz, dagegen als stabile Merkmale anzusehen sind, sind die Resistenzquoten gegenüber diesen Stoffen jeweils am höchsten, und ein prozentualer Rückgang in der einen oder anderen Resistenzeigenschaft steht hier dann eventuell mit Selektionseffekten, aber nicht mit einem Plasmid-eliminierenden Effekt,in Zusammenhang.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden insgesamt 1022 Isolate von Staphylokokken unterschiedlicher Herkunft in Bezug auf das gleichzeitige Vorliegen von Resistenz gegenüber Antibiotika und bestimmten Metallionen untersucht. Es erfolgte dazu zunächst eine selektive Anzucht von Staphylokokken aus dem Nasen-Rachen-Raum und der Faecalflora von Kalb und Schwein unter Verwendung von Pb^{2+}, Hg^{2+}, Cd^{2+}, Zn^{2+} sowie As^{3+} und As^{5+}-Ionen als selektierendes Agens und anschließend eine Testung einer repräsentativen Zahl von Einzelkolonien gegenüber bis zu 15 verschiedenen Antibiotika. Die Resistenzquoten von 356 Isolaten vom Kalb und 449 Isolaten vom Schwein sowie die Resistenzbilder wurden daraufhin mit den Testergebnissen verglichen, die sich bei der ergänzenden Prüfung von Staphylokokken von Schwein, Huhn, Hund und des Menschen aus dem Diagnostikmaterial des Instituts für Medizinische Mikrobiologie der Universität München, die ohne die Verwendung eines Metallions als Selektor isoliert worden waren, ergeben hatten. Desweiteren wurden acht Isolate von Staphylococcus aureus des Menschen und 13 Staphylokokken-Isolate tierischer Herkunft (Kalb und Schwein) wiederholt mit und ohne Zusatz von bis zu fünf verschiedenen "Curing Agents" (Akridinorange, Dimethylsulfoxid, Natriumdodecylsulfat, Carbadox und Aflatoxin B_1) passagiert, um festzustellen, welche der häufig nachgewiesenen Merkmale von Chemoresistenz stabil, bzw. instabil, sind.

Die Prüfung der Isolate auf ihre Resistenzeigenschaften gegenüber Antibiotika erfolgte mit dem Plattendiffusionsverfahren unter Berücksichtigung der Hemmhofdurchmesser und deren Interpretation nach

den von den Standardisierungsausschüssen DIN und NCCLS vorliegenden Bewertungsgrenzen für "resistent", "mäßig empfindlich" und "empfindlich". Für die Testung der Empfindlichkeit, bzw. Resistenz, gegenüber Metallionen,wurde das Verfahren der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration herangezogen, wobei dem Agar die verschiedenen Konzentrationen der Salze der Elemente Blei, Quecksilber, Cadmium, Zink, Arsen und Kupfer zugesetzt und die Beimpfung mit dem Multipointinokulator vorgenommen wurde. Zur Feststellung induzierter und spontaner Verluste von Eigenschaften der Chemoresistenz wurde die Sammelmethode für Abklatschkolonien nach EXNER (1980) verwendet, die dazu geringfügig modifiziert wurde.
Die mit Metallionen selektierten Staphylokokken von Kalb und Schwein zeigten im wesentlichen die gleichen Resistenzeigenschaften gegenüber Antibiotika wie die ohne Selektor angezüchteten Staphylokokken gleicher Herkunft. Am häufigsten wurde bei ihnen eine Parallelresistenz gegenüber Makroliden und Lincosaminen, zusammengefaßt unter dem Symbol "Mac", sowie Unempfindlichkeit gegenüber Chloramphenicol, Streptomycin und Tetracyclin festgestellt. Die Isolate vom Kalb erwiesen sich darüberhinaus noch zu einem höheren Prozentsatz als Kanamycin-resistent, die Isolate vom Schwein dagegen als Penicillin G-resistent. Aufgrund des Verhaltens gegenüber Novobiocin waren die Isolate häufiger der Gruppe der Novobiocin-resistenten als der Gruppe der Novobiocin-empfindlichen Arten zuzuordnen. Den anderen getesteten Antibiotika gegenüber lagen die Resistenzquoten nicht über 10 %, ausgenommen Spektinomycin (> 90 %).

Während die Resistenzeigenschaften der Isolate vom Huhn im wesentlichen mit denjenigen vom Kalb und Schwein übereinstimmten, wichen die vom Hund und Staphylococcus aureus des Menschen dagegen sehr ab. Diese hauptsächlich gegenüber ß-Lactam-Antibiotika-resistenten oder nur mäßig empfindlichen Staphylokokken erwiesen sich in erster Linie als Blei-resistent und waren seltener als Isolate landwirtschaftlicher Nutztiere Arsen-resistent. Da daneben auch häufiger bei Staphylococcus aureus eine Resistenz gegenüber Zink, Cadmium und Quecksilber als bei den Isolaten der verschiedenen Tierarten nachzuweisen war, erwiesen sich die Isolate menschlicher Herkunft als höher mehrfach-resistent gegenüber Metallionen als Isolate tierischer Herkunft. Die Isolate vom Schwein waren außer Arsen-resistent zuweilen auch gegenüber höheren Kupferkonzentrationen (200 µg/ml) resistent und zeigten eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber Zink.

Während sich die Isolate von Staphylococcus aureus des Menschen in den Merkmalen Erythromycin-, Penicillin G-, Tetracyclin-, Chloramphenicol-, Streptomycin-, Kanamycin-Resistenz und Resistenz gegenüber den Metallionen Pb^{2+}, Hg^{2+}, Cd^{2+} und As^{3+} als weitgehend stabil verhielten, waren induzierte und teilweise spontane Verluste bei den Merkmalen Tetracyclin, Kanamycin, Chloramphenicol und Quecksilber, nicht dagegen betreffend Resistenz gegenüber Erythromycin und Arsen, bei den Isolaten tierischer Herkunft zu verzeichnen. Damit dürfte in Zusammenhang stehen, daß in den Merkmalskombinationen der Chemoresistenz bei den Isolaten tierischer Herkunft eine größere Vielfalt nachzuweisen war, als bei Isolaten von Staphylococcus aureus des Menschen.

SUMMARY : On incidence and persistence of chemoresistance in staphylococci of different origin.

A total amount of 1.022 isolates of staphylococci of different origin were tested as to their simultaneous occurrence of resistance to antibiotics and certain metallions. First, a selective cultivation of staphylococci from the nose-throat area and the fecal flora of calf and pig was done with the application of Pb^{2+}, Hg^{2+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}, as well as As^{3+} and As^{5+}-ions as selective agents. Then, a representative number of single colonies was tested against up to 15 antibiotics.

In the following, the resistance quota, as well as the resistance pattern, of 356 calf isolates and 449 pig isolates were compared with the test results, which were obtained by a supplementary examination of staphylococci of pig, chicken, dog and man isolated without the use of metallion as selector from the diagnostic material of the Institute for Medical Microbiology of the University of Munich.

Apart from that, eight isolates of Staphylococcus aures of human origin and thirteen staphylococci isolates of animal origin (calf and pig) were repeatedly passaged with and without adding up to 5 different curing agents (acridinorange, dimethylsulphoxide, sodium-dodeclysulphate, carbadox and aflatoxin B_1) to find out which of the often established characteristics of chemo-resistance are stable or unstable.

The examination of isolates as to their resistance to antibiotics was made with the aid of agardisc diffusion test taking into consideration the inhibition zones and their interpretation according to the present guidelines for "resistant", "moderate susceptible", and "susceptible" of the standardization committees DIN and NCCLS.

Susceptibility, respectively resistance, to metalions was tested by using the determination of minimal inhibition concentration. In this case, various concentrations of salts of the elements lead, mercury, cadmium, zinc, arsenic and copper were added and the inoculation with the multi-point inoculator was conducted. Induced and spontaneous loss of chemo-resistance was established by using the collection method for colonies taken by rubbing according to EXNER (1980). In this connection, the method was slightly modified.

Calf and pig staphylococci selected with metalions showed largely the same degree of resistance to antibiotics as staphylococci of the same origin cultivated without a selector. For the most part, they showed a parallel resistance to macrolides and lincosamines, combined under the symbol "Mac", as well as susceptibility to chloramphenicol, streptomycin and tetracyclin. Apart from that, pig isolates proved to be penicillin G-resistant to an even more higher degree than calf isolates, which show, on the other hand, higher resistance to kanamycin. Due to their behaviour when confronted with novobiocin, these isolates could more often be associated with the novobiocin resistant group than with the novobiocin susceptible species. The resistance quota to the other antibiotics tested did not succeed 10 %, excluding in the case of spectinomycin (> 90%). While resistance of chicken isolates was generally concurrent with that of calf and pig, the resistance of the dog isolates and Staphylococcus aureus of man, on the other hand, deviated largely. These only moderately sensitive staphylococci, which are mainly resistant to ß-lactam antibiotics, proved, above all, to be lead resistant and

were more seldom arsenic resistant than the isolates of farm animals. The fact that Staphylococcus aureus showed more often resistance to zinc, cadmium and mercury than the isolates from various animals,proved that isolates of human origin are to a larger extent multiple resistant to metalions than isolates of animal origin. Pig isolates were, apart from being arsenic resistant, also resistant to higher copper concentrations (200 μg/ml) and showed a different susceptibility to zinc.

While human Staphylococcus aureus isolates proved themselves to be largely stable in their resistance to erythromycin, streptomycin, kanamycin, and as to the metalion Pb^{2+}, Hg^{2+}, Cd^{2+}, and As^{3+}, the isolates of animal origin showed induced and partially spontaneous loss in connection with tetracyclin, kanamycin, chloramphenicol and mercury, in this case only excluding the resistance to erythromycin and arsenic.

This may be connected to the fact that there is a larger variety of trait configurations of chemo-resistance in isolates of animal origin than is the case in isolates of Staphylococcus aureus of man.

6. LITERATURVERZEICHNIS

Abkürzungen der Zeitschriften nach O. LEISTNER (1981): ITA-Internationale Titelabkürzungen, 3. Auflage.

AKATOV,A.K., KATHENEVER,M.L., DEVRIESE,L.A., 1981:
Identification of coagulase-negative Staphylococci isolated from clinical sources.
In: JELJASZEWICZ,J., Staphylococci and staphylococcal infections, Zbl.Bakt.Suppl.10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 153-161.

ALLEN,N.E., 1977:
Macrolide resistance in Staphylococcus aureus. Induction of macrolide-resistant protein synthesis.
Antimicr.Ag Chemother, 11, 661-668.

ALLEN,N.E., EPP,J.K., 1978:
Mechanism of penicillin-erythromycin synergy on antibiotic-resistant Staphylococcus aureus.
Antimicr Ag Chemohter, 13, 849-853.

ARCHER,G.L., VISHNIAVSKY,N., STIVER,G.H., 1982:
Plasmid pattern analysis of Staphylococcus epidermidis isolates from patients with prosthetic valve endocarditis.
Infect Immun, 35, 627-632.

ASHESHOW,E.H., PORTHOUSE,A., 1976:
The transducing abilities of different typing phages of Staphylococcus aureus.
In: JELJASZEWICZ,J., Staphylococci and staphylococcal infections,Zbl.Bakt.Suppl.10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 307-312.

BAN,E., MILCH,H., JANOSI,L., 1976:
Changes in phage pattern in Staphylococcus aureus due to elimination of different plasmids.
In: JELJASZEWICZ,J., Staphylococci an staphylococcal diseases, Zbl.Bakt.Suppl. 5,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 325-333.

BAIRD-PARKER,A.C., 1974:
Micrococcaceae.
In: BERGEY'S Manual of determinative bacteriology, 8th ed.,
The Williams and Williams Company, Baltimore, 478-490.

BASTOS,M.C.F., BONALDO,M.C., BENODI,E.G.C., 1980:
Constitutive erythromycin resistance plasmid in Staphylococcus aureus.
J gen Micr, 121, 513-516.

BAUER,W.R., CRICK,F.H.C., WHITE,J.H., 1980:
Überspiralige Formen der Erbsubstanz.
Sektr Wiss, 9, 24-36.

BIRGE,E.A., 1981:
Bacterial and bacteriophage genetic- an introduction.
Springer Verlag, New York-Heidelberg-Berlin.

BOUCHANAUD,D.H., SCAVAZZI,M.R., CHABBERT,Y.A., 1969:
Elimination by ethidium-bromid of antibiotic resistance in Enterobacteriaceae and staphylococci.
J gen Micr, 54, 417-425.

BRUNS,W., KEPPLER,H., 1976:
The emzyme-independent type of penicillin-resistance.
In: JELJASZEWICZ,J., Staphylococci and staphylococcal diseases, Zbl.Bakt.Suppl. 5,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 1077-1083.

BRUN,Y., FLEURETTE,J., FOREY,F., GONTHIER,B., 1981:
Antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci (CNS).
In: JELJASZEWICZ,J., Staphylococci and staphylococcal infections, Zbl.Bakt.Suppl.10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 137-145.

BUKHARI,A.I., SHAPIRO,J.A., ADHYA,S.L., 1977:
DNA, insertion elements, plasmids and episomes.
Section II: Transposons and plasmids.
Cold Spring Harbor Laboratory, 137-138.

CHOPRA,I., 1975:
Mechanism of plasmid mediated resistance to cadmium in Staphylococcus aureus.
Antimicr Ag Chemother, 7, 8-14.

CHOPRA,I., 1976:
Mechanism of tetracycline and fusidic acid resistance in Staphylococcus aureus.
In: JELJASZEWICZ,J., Staphylococci and staphylococcal diseases, Zbl.Bakt.Suppl. 5,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 287-295.

CHOPRA,I., HOWE,T.G.B., 1978:
Bacterial resistance to the tetracyclines.
Microbiol Rev, 42, 707-724.

CLOWES,R.C., 1972:
Molecular structure of bacterial plasmids.
Bact Rev, 36, 361-405.

COHEN,S.N., 1976:
Transposable genetic elements and plasmid evolution.
Nat, 263, 731-738.

COHEN,S.N., SHAPIRO,J.A., 1980:
Transponierbare genetische Elemente.
Spektr Wiss, 4, 64-74.

CONNAMACHER,R.H., 1976:
Inducible bacterial resistance.
In: HAHN,F.E., Acquired resistance of microorganisms to chemotherapeutic drugs.
S. Karger, Basel-München-Paris-London-New York-Sydney, 8-66.

CUTTLER,R.R., 1981:
Comparative virulence of 40 clinical isolates of Staphylococcus aureus, some multi-antibiotic resistant.
In: JELJASZEWICZ,J., Staphylococci and staphylococcal infections, Zbl.Bakt.Suppl.10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 673-677.

DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG, e.V., 1976:
Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika.
Entwurf November 1976, DIN 58940, Teil 3,
Beuth Verlag, Berlin.

DAVIS,J., BERG,D., JORGENSEN,R., FIANDT,M., HUANG,T.S.R., COURVALIN,P., SCHLOFF,J., 1977:
Transposable neomycin phosphotransferase.
In: DREWS,J., HOEGENAUER,G., Topics in infectious diseases, vol.2,
Springer Verlag, Vienna-New York, 101-110.

DEVRIESE,L.A., 1976:
In vitro susceptibility and resistance of animal staphylococci to macrolide antibiotics and related compounds.
Ann Res Vet, 7, 65-74.

DEVRIESE,L.A., 1977:
Identification of clumping factor negative staphylococci isolated from cow's udders.
Res Vet Sci, 27, 313-320.

DEVRIESE,L.A., 1980a:
Sensitivity of staphylococci from farm animals to antibacterial agents used for growth promotion and therapy- a ten year study.
Ann Res Vet, 11, 399-408.

DEVRIESE,L.A., 1980b:
Two new types of resistance to lincomycin in pathogenic staphylococci from animals.
Ann Microbiol (Inst.Pasteur), 131B, 261-266.

DEVRIESE,L.A., HOMMEZ,J., 1975:
Epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in dairy herds.
Res Vet Sci, 19, 23-27.

DEVRIESE,L.A., OEDING,P., 1976:
Characteristics of Staphylococcus aureus strains isolated from different animal species.
Res Vet Sci, 21, 284-291.

DIERK,G., STEPHAN,R., BULLING,E., 1976:
Querschnittsuntersuchungen über die Verbreitung von resistenten Keimen bei Tieren im Jahr 1974.
Zbl Vet Med, B23, 542-554.

DYKE,K.G.H., PARKER,M.T. RICHMOND,M.H., 1970:
Penicillinase production and metal-ion resistance in Staphylococcus aureus cultures isolated from hospital patients.
J med Microbiol, 3, 125-136.

EXNER,M., 1980:
Zur kulturellen Differenzierung von Abklatschkolonien mit einer Sammelmethode.
Zbl Bakt, B170, 88-92.

FUSSEL,M.H., 1981:
Antibiotics as growth promoters.
In: JOLLY,D.W., MILLER,D.J., ROSS,D.B., SIMM,P.D., Vth AVI-Symposium,'Ten Years on from Swann', London, 1981, 43-50.

GEDEK,B., 1980:
Modern growth promoters and bacterial resistance.
In: Estratto dal Volume 'Performance nelle produzioni animali'. Edizioni Minerva Medici, pp 103-116 (Ital.) and 277-294 (Engl.).

GEDEK,B., 1981a:
Factors influencing multiple resistance in enteric bacteria in animals.
In: JOLLY,D.W., MILLER,D.J., ROSS,D.B., SIMM,P.D., Vth AVI-Symposium,'Ten Years on from SWANN', London, 1981, 11-26.

GEDEK,B., 1981b:
Zur Wirkung von Kupfer im Tierfutter als Selektor Antibiotika-resistenter E. coli-Keime beim Schwein.
Tierärztl Umsch, 36, 6-21.

GEDEK,B., 1981c:
Occurrence of plasmid-determined resistance in bacterial populations of animal origin and from feeding-stuffs.
In: POHL,P., LEUNEN,J., C.E.C. Seminar on Resistance and pathogenic Plasmids. Publ. National Institut for Veterinary Research, Brüssel(Selbstverlag), 9-35.

GEDEK,W., 1972:
Die Staphylokokken-Mastitis bei Haustieren.
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.

GEDEK,B., LINCKH,E., 1981:
Occurrence of resistance to aminoglycosides in staphylococci of human and animal origin.
In: WIEDMANN,B., REEVES,D.S., Bacterial resistance to aminoglycoside-antibiotics, proceedings of the Symposium by the PAUL EHRLICH society for chemotherapy and the BRITISH society for antimicrobial chemotherapy, 179-191.

GOODFELLOW,M., ALDERSON.G., PETERS,G., SCHUHMACHER-PERDREAU,F., HECZKO,P.B., MOROARSKI,M., PULVERER,G., 1981:
Numerical classification of coagulase-negative staphylococci.
In: JELJASZEWICZ,J., Staphylococci and staphylococcal infections, Zbl.Bakt.Suppl.10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 129-135.

GROVES,D.J., YOUNG,F.E., 1975:
Epidemiology of antibiotic and heavy metal resistance in bacteria: Resistance-patterns in staphylococci isolated from populations not known to be exposed to heavy metals.
Antimicr Ag Chemother, 7, 614-621.

GROVES,D.J., SHORT,H., THEWAINI,A.J., YOUNG,F.E., 1975:
Epidemiology of antibiotic and heavy metal resistance in bacteria: Resistance-patterns in staphylococci isolated from populations in Iraq exposed and not exposed to heavy metals or antibiotics.
Antimicr Ag Chemother, 7, 622-628.

HAHN,F.E., 1976a:
Acquired resistance and natural insensitivity to chemotherapeutic drugs.
In: HAHN,F.E., Acquired resistance and natural insensitivity to chemotherapeutic drugs,
S. Karger, Basel-München-Paris-London-New York-Sydney, 1-7.

HAHN,F.E., 1976b:
Experimental elimination of R-factors.
In: HAHN,F.E., Acquired resitance and natural insensitivity to chemotherapeutic drugs,
S. Karger, Basel-München-Paris-London-New York-Sydney, 196-226.

HAJEK,V., SCHINDLER,J., 1981:
Cluster-analysis of coagulase-positive staphylococci.
In: JELJASZEWICZ,J., Staphylococci and staphylococcal infections, Zbl.Bakt.Suppl.10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 27-36.

HARWOOD,C.R., 1980:
Plasmids.
In: GOODFELLOW,M., BOARD,R.G., Microbial classification and identification,
Academic Press, London-New York-Toronto-Sydney, San Francisco, 27-53.

HELINSKI,D.R., 1973:
Plasmid-determined resistance to antibiotics: Molecular properties of R-factors.
Ann Rev Microbiol, 27, 437-470.

HUMMEL,R., 1981:
Ecology of Staphylococcus aureus with regard to transmission of strains between man and animal.
In: JELJASZEWICZ,J., Staphylococci and staphylococcal infections, Zbl.Bakt.Suppl.10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 997-1000.

JACOBY, G.A., SWARTZ, M.N., 1980:
Plasmids: Microbial and clinical importance
In: WEINSTEIN, L., FIELDS, B.N., Seminars in infection diseases,Vol. III,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, 1-37.

JELJASZEWICZ, J., STOCHMAL, K., PULVERER, G., 1976:
Trends in antibiotic resistance of staphylococci in Poland and Western Germany.
In: JELJASZEWICZ, J., Staphylococci and staphylococcal diseases, Zbl. Bakt.Suppl. 5,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 1055-1061.

JORDANESCU, S., SURDEANU, M., 1980:
New incompatibility groups for Staphylococcus aureus plasmids.
Plasmid, 4, 256-260.

KAYSER, F.H., FELIX, M., WÜST, J., 1972:
Extrachromosomal and chromosomal drug resistance in methicillin-resistant Staphylococcus aureus.
In: KRCMERY, V., ROSIVAL, L., WATANABE, T., Bacterial plasmids and antibiotic resistance,
Avicenum-Czechoslovak Medical Press, Prague,
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 371

KAYSER, F.H., SANTANAM, P., BIBER, J., 1976:
Genetic basis and mode of resistance to aminoglycosides in Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis.
In: JELJASZEWICZ, J., Staphylococci and staphylococcal diseases, Zbl.Bakt.Suppl. 5,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 276-286.

KHAN, S.A., NOVICK, R.P., 1980:
Terminal nucleotide sequences of Tn 551, a transposon specifying erythromycin-resistance in Staphylococcus aureus: Homology with Tn 3.
Plasmid, 4, 148-154.

KLOOS, W.E., SCHLEIFER, K.H., 1981:
The Genus Staphylococcus.
In: The Prokaryotes,
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1549-1569.

KLOOS, W.E., MUSSELWHIT, M.S., ZIMMERMANN, R.J., 1976:
A comparison of the distribution of staphylococci species on human and animal skin.
In: JELJASZEWICZ, J., Staphylococci and staphylococcal diseases, Zbl.Bakt. Suppl. 5,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 967-973.

KLOOS, W.E.. SCHLEIFER, K.H., NOBLE, W.C., 1976:
Estimation of character parameters in coagulase-negative Staphylococcus species.
In: JELJASZEWICZ, J., Staphylococci and staphylococcal diseases, Zbl.Bakt.Suppl. 5,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 23-41.

KLOOS, W.E., ORBAN, B.S., WALKER, D.D., 1981:
Plasmid composition of Staphylococcus species.
Can J Microb, 27, 271-278.

KNOTHE, H., 1977 a:
A review of the medical considerations of the use of tylosin and other macrolide antibiotics as additives in animal feeds.
Infection, 5, 183-187.

KNOTHE, H., 1977 b:
Medical implications of macrolide resistance and its relationship to the use of tylosin in animal feeds.
Infection, 5, 137-139.

KOCH, A.L., 1981:
Evolution of antibiotic resistance gene function.
Microbiol Rev, 45, 355-378.

KONDO, I., ISHIKAWA, T., NAKAHARA, H., 1974:
Mercury and cadmium resistance mediated by the penicillinase-plasmid in Staphylococcus aureus.
J Bact, 117, 1-7.

KONDO, I., ISHIKAWA, T., NAKAHARA, H., 1976:
Heavy metal resistance in Staphylococcus aureus.
In: JELJASZEWICZ, J., Staphylococci and staphylococcal diseases, Zbl. Bakt.Suppl. 5,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 217-230.

KROLEWSKI, J.J., MURPHY, E., NOVICK, R.P., RUSH, M.G., 1981:
Site-specifity of the chromosomal insertion of Staphylococcus aureus transposon Tn 554.
J Molec Biol, 152, 19-33.

KUSCH, D., SIEMS, H., SINELL, H.J., 1972:
Zur Antibiotikaresistenz koagulase-positiver Staphylokokken aus verschiedenen Biotypen.
Zbl Vet Med, B19, 285-290.

LACEY, R.W., 1975:
Antibiotic resistance-plasmids of Staphylococcus aureus and their clinical importance.
Bact Rev, 39, 1-32.

LACEY, R.W., 1981:
Are resistant bacteria from animal and poultry an important threat to the treatment of human infections?
In: JOLLY, D.W., MILLER, D.J., ROSS, D.B., SIMM, P.D., 5th AVI-Symposium, 'Ten Years on from Swann', London, 1981, 127-144.

LACEY, R.W., RICHMOND, M.H., 1974:
The genetic basis of antibiotic resistance in Staphylococcus aureus: The importance of gene-transfer in the evolution of this organism in the hospital environment.
Ann NY Ac Sci, 236, 395-412.

LEDERBERG, J., LEDERBERG, E.M., 1952:
Replica plating and indirect selection of bacterial mutants.
J Bact, 63, 399-406.

LEVINTHAL, M., 1974:
Bacterial genetics excluding E. coli.
Ann Rev Microbiol, 28, 219-230.

LINCKH, E., 1980:
Zur Charakterisierung faecaler Staphylokokken von Huhn und Schwein unter Berücksichtigung ihrer Resistenzeigenschaften gegenüber Antibiotika.
Vet. Med. Diss., Universität München

MITSUHASHI, S., 1980:
Non-conjugative drug resistance plasmids.
In: MITSUHASHI,S., ROSIVAL,L., KRCMERY, V., Antibiotic resistance- transposition and other mechanisms,
Avicenum-Czechoslovak Medical Press, Prague,
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 3-9.

MITSUHASHI, S., INOUE, M., OSHIMA, H., OKUBO, T., SAITO, T., 1976 a:
Epidemiology and genetic studies of drug resistance in staphylococci.
In: JELJASZEWICZ, J., Staphylococci and staphylococcal diseases, Zbl.Bakt.Suppl. 5,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 255-274.

MITSUHASHI, S., IYOBE, S., INOUE, M., 1976 b:
Genetic of R-factors.
In: HAHN, F.E., Acquired resistance of microorganisms to chemotherapeutic drugs,
S. Karger, Basel-München-Paris-London-New York-Sydney, 133-174.

MITSUHASHI, S., MORIMURA, M., KONO, K., OSHIMA, H., 1963:
Elimination of drug resistance of Staphylococcus aureus by treatment with acriflavine.
J Bact, 86, 162.

MITSUHASHI, S., HASHIMOTO, H., IYOBE, S., INOUE, M., 1977:
Formation of conjugative drug resistance (R-)plasmids.
In: BUKHARI, A.I., SHAPIRO, J.A., ADHYA, S.L., DNA,
Insertion elements, plasmids and episomes,
Cold Spring Harbor Laboratory, 139-146.

MLYNARCZYK, A., MLYNARCZYK, G., OSOWIECKI, H., 1981:
Investigations on the location of genes confering resistance to antibiotics and metal ions in hospital strains of Staphylococcus aureus.
In: JELJASZEWICZ, J., Staphylococci and staphylococcal infections, Zbl.Bakt.Suppl. 10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 607-614.

MOORE, B., 1960:
A new screen test and selective medium for the rapid detection of epidemic strains of Staphylococcus aureus.
Lanc, 2, 453-458.

NAKAHARA, H., ISHIKAWA, T., SARAI, Y., KONDO, I., 1977:
Distribution of resistance to metals and antibiotics of staphylococcal strains in Japan.
Zbl Bakt Hyg, A237, 470-476.

NAVASIN, S.M., FOMINA, I.P., 1972:
Multiple drug resistance of pathogens in purulent surgical infections.
In: KRCMERY, V., ROSIVAL, L., WATANABE, T., Bacterial plasmids and antibiotic resistance,
Avicenum-Czechoslovak Medical Press, Prague,
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg,New York,

NOVICK, R.P., 1969:
Extrachromosomal inheritance in bacteria.
Bact Rev, 32, 210-263.

NOVICK, R.P., 1980:
Plasmids.
Sci Amer, 243, 76-90.

NOVICK, R.P., 1981:
The development and spread of antibiotic-resistant bacteria as a consequence of feeding antibiotics to livestock.
Ann Ny Ac Sci, 368, 23-59.

NOVICK, R.P., MORSE, S.I., 1967:
In vivo transmission of drug resistance factors between strains of Staphylococcus aureus.
J Exp Med, 125, 45-59.

NOVICK, R.P., ROTH, Ch., 1968:
Plasmid-linked resistance to inorganic salts in Staphylococcus aureus.
J Bact, 95, 1335-1342.

NOVICK, R.P., CLOWES, R.C., COHEN, S.N., CURTISS, R., III, DATTA, N., FALKOW, S., 1976:
Uniform nomenclature for bacterial plasmids: A proposal.
Bact Rev, 40, 168-189.

NOVICK, R.P., SANCHEZ-RIVAZ, C., GRUSS, A., EDELMANN, I., 1980:
Involvement of the cell envelope in plasmid maintenance: Plasmid-curing during the regeneration of protoplasts.
Plasmid, 3, 348-358.

OBERWALLNER, J., 1982:
Zum Vorkommen von Chemotherapieresistenz bei Staphylokokken und Escherichia coli vom Hund.
Vet. Med. Diss., Universität München.

OEDING, P., 1978:
Genus Staphylococcus.
In: BERGAN, T., NORRIS, J.R., Methods in Microbiology, Vol. 12, Chapter VIII,
Academic Press, London-New York-San Francisco, 127-176.

OSOWIECKI, H., MLYNARCZYK, A., MLYNARCZYK, G., 1981:
Drug resistance in Staphylococcus aureus: Genetic and biochemical basis.
In: JELJASZEWICZ, J., Staphylococci and staphylococcal infections, Zbl.Bakt.Suppl. 10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 521-528.

PAUL-EHRLICH-Gesellschaft für Chemotherapeutika, e.V., Arbeitsgemeinschaft "Resistenz", 1978:
Empfindlichkeit klinischer Isolate einiger Enterobacteriaceae sowie von Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus und Streptococcus faecalis gegenüber Chemotherapeutika.
Infection, 6, 35-44.

PAUL-EHRLICH-Gesellschaft für Chemotherapeutika, e.V., Arbeitsgemeinschaft "Resistenz", 1980:
Empfindlichkeit klinischer Isolate einiger Enterobacteriaceae sowie von Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus und Streptococcus faecalis gegenüber Chemotherapeutika.
Ergebnisse einer überregionalen, kooperativen Studie aus dem Jahr 1979.
Infection, 8, 307-308.

PAUL-ERHLICH-Gesellschaft für Chemotherapeutika, e.V., Arbeitsgemeinschaft "Resistenz", 1982:
Empfindlichkeit klinischer Isolate einiger Enterobacteriaceae sowie von Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus und Streptococcus faecalis gegenüber Chemotherapeutika.
Ergebnisse einer überregionalen, kooperativen Studie aus den Jahren 1980 und 1981.
Infection, 10, 310-314.

PEREIRA, A.T., PIMENTEL, J.M.C., CRISTINO, J.A.G.M., 1981:
The virulence of Staphylococcus saprophyticus M3 strains and their pathogenicity in the urinary tract.
In: JELJASZEWICZ, J., Staphylococci and staphylococcal infections, Zbl.Bakt.Suppl. 10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 181-188.

PLORDE, J.J., SHERRIS, J.C., 1974:
Staphylococcal resistance to antibiotics: Origin, measurement and epidemiology.
Ann N Y Ac Sci, 236, 413-434.

RICHMOND, M.H., 1981:
The emergence of antibiotic resistance in bacteria and its implications for antibiotic use.
In: JOLLY, D.W., MILLER, D.J., ROSS, D.B., SIMM, P.D., 5th AVI-Symposium, 'Ten Years on from Swann!, London, 1981, 99-109.

ROLLE, M., MAYR, A., 1978:
Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, 4. Auflage,
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart

ROSDAHL, V.T., ROSENDAL, K., 1980:
Resistance to cadmium and mercury among Danish strains of Staphylococcus aureus isolated from cases of bacteriaemia, 1957-1974.
J Med Microbiol, 13, 383-391.

ROSENDORF, L.L., KAYSER, F.H., 1974:
Transduction and plasmid deoxyribonucleic acid in a multiple antibiotic-resistant strain of Staphylococcus epidermidis.
J Bact, 120, 679-686.

RUBIN, S.J., ROSENBLUM, E.D., 1971:
Effects of etidium-bromide on growth and on loss of the penicillinase-plasmid of Staphylococcus aureus.
J Bact, 108, 1200.

SABATH, L.D., WALLACE, S.J., BYERS, K., TOFTEGAARD, I., 1974:
Resistance of Staphylococcus aureus to penicillins and cephalosporins: Reversal of intrinsic resistance with some chelating agents.
Ann NY Ac Sci, 236, 435-443.

SCHINDLER, J., 1972:
Concomitant loss of markers during elimination of tetracycline marker in Staphylococcus aureus.
In: KRCMERY, V., ROSIVAL, L., WATANABE, T., Bacterial plasmids and antibiotic resistance,
Avicenum-Czechoslovak Medical Press, Prague,
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 391.

SCHÖN, E., PLACHKA, J., 1977:
Survey of drug resistance in Staphylococcus aureus.
In: MITSUHASHI, S., ROSIVAL, L., KRCMERY, V., Plasmids - medical and theoretical aspects,
Avicenum-Czechoslovak Medical Press, Prague,
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 65-68.

SCHRINNER, E., 1981:
Bakterielle Antibiotikaresistenz.
Dt Med Ws, 106, 276-280.

SENGBUSCH, P., von, 1979:
Molekular- und Zellbiologie.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.

SHALITA, Z., MURPHY, E., NOVICK, R.P., 1980:
Penicillinase-plasmids of Staphylococcus aureus: Structural and evolutionary relationships.
Plasmid, 3, 291-311.

SIEBERT, Th., 1982:
Zur Selektion von E.coli mit Plasmid-codierter Chemotherapieresistenz durch Metallionen beim landwirtschaftlichen Nutztier.
Vet. Med. Diss, Universität München.

SILVER, S., 1981:
Mechanisms of plasmid-determined resistance to mercury, cadmium and arsenic in Staphylococcus aureus.
In: JELJASZEWICZ, J., Staphylococci and staphylococcal infections, Zbl.Bakt.Suppl. 10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 589-600.

SILVER, S., BUDD, K., LEAHY, K.M., SHAW, W.V., HAMMOND, D., NOVICK, R.P., WILLSKY, G.R., MALAMY, M.H., ROSENBERG, H., 1981:
Inducible plasmid-determined resistance to arsenate, arsenite and antimony (III) in Escherichia coli and Staphylococcus aureus.
J Bact, 146, 983-996.

SMITH, H.W., 1965:
The development of the flora of the alimentary tract in young animals.
J Path Bact, 90, 495-513.

SONSTEIN, S.A., BALDWIN, J.N., 1972:
Loss of the PC-ase-plasmid after treatment of Staphylococcus aureus with sodium dodecyl sulphate.
J Bact, 109, 262.

STIFFLER, P.W., SWEENEY, H.M., COHEN, S., 1974:
Co-transduction of plasmids mediating resistance to tetracycline and chloramphenicol in Staphylococcus aureus.
J Bact, 120, 934-944.

SZYDLOWSKA, T., 1977:
Untersuchungen in vitro und in vivo über den Einfluß von Dimethylsulfoxid (DMSO) auf die Wiedererlangung der Sensibilität von resistenten Stämmen gegen Antibiotika und Chemotherapeutika.
Zbl Bakt Hyg, A239,270-274.

TYNECKA, Z., ZYLINSKA, W., 1974:
Plasmid-born resistance to some inorganic ions in Staphylococcus aureus.
Acta Microbiol Polon, 6, 83-92.

VOGEL, L., NATHAN, C., SWEENEY, M., KABINS, S.A., COHEN, S., 1978:
Infections due to gentamycin-resistant Staphylococcus aureus strain in a nursery for neonatal infants.
Antimicr Ag Chemo Ther, 13, 466-472.

WEIS, J., GROSSER, J., 1981:
Ein Beitrag zum Vorkommen von Antibiotika-resistenten Staphylococcus aureus und Pseudomonas aeruginosa Stämmen.
Tierärztl Umsch, 36, 106-109.

WITTE, W., 1981:
Transfer of drug resistance plasmids in mixed cultures of staphylococci.
In: JELJASZEWICZ, J., Staphylococci and staphylococcal infections, Zbl.Bakt.Suppl. 10,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 543-546.

ZUEVA, V., DMITRENKO, O., LINEVICH, Y., 1980:
Stability of the drug resistance of Staphylococcus aureus under different conditions. Spontaneous loss of some plasmids in experimental conditions and in vivo.
In: MITSUHASHI, S., ROSIVAL, L., KRCMERY, V., Antibiotic resistance - transposition and other mechanisms,
Avicenum-Czechoslovak Medical Press, Prague,
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 341-346.

Mein herzlicher Dank gilt Frau Prof. Dr. B. Gedek für die Überlassung des Themas und ihrer stets freundlichen Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr danke ich besonders für die mir gewährte Arbeitsmöglichkeit und sein stetes Interesse an meiner Arbeit.

Herrn Dr. J. Bauer und Herrn Dr. M. Gareis möchte ich für die wertvollen Ratschläge danken.

Frau S. Maron danke ich für die technische Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

LEBENSLAUF

Geburtstag	:	13.12.1952
Geburtsort	:	Freising
Eltern	:	Theresia Bartels, geb. Gißibl Joachim Bartels
Schulausbildung	:	-1959-1963 Volksschule in Marzling -1963-1964 Knabenschule Fürstenfeldbruck -1964-1973 math.-nat. Gymnasium Fürstenfeldbruck -1973 Abitur -Nach Ableistung des Wehrdienstes ab Wintersemester 1975/76 Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München -Mai 1980 Staatsexamen in München -Beginn des Promotionsstudiums am 1. Juni 1981 am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München